

El manejo integrado de los cultivos en relación con el control de plagas

Muestra las tendencias actuales del control de plagas en una forma integrada, en la cual se tiene como principal función el manejo del cultivo y el efecto de muchas prácticas agronómicas, culturales, físicas y herramientas de control, sobre las poblaciones de insectos plagas.





CAPÍTULO 5

Cómo implementar un programa de manejo integrado de plagas

Álex Enrique Bustillo Pardey

El desarrollo de insecticidas de síntesis entre 1940 y 1950 causó una revolución en la agricultura, debido a que el agricultor podía resolver los problemas fitosanitarios e incrementar su productividad, y así ampliar la frontera agrícola con mayor confianza hacia un mercado más seguro, con productos de buena calidad y con un flujo permanente. Sin embargo, el uso continuo de estas moléculas muy pronto mostró que su eficacia no se mantenía a través del tiempo, debido a la resistencia que los insectos empezaban a desarrollar, lo cual exigía de la industria nuevos productos para reemplazar los existentes. A pesar de que se seguían desarrollando nuevos insecticidas, su vida en el mercado era muy corta por la rápida pérdida de su eficacia debido a su uso intensivo, sin tener en cuenta las complejidades de los ecosistemas y la dinámica de las poblaciones plagas, que en muchos casos llevaban a desastres económicos de grandes proporciones entre los agricultores.

El uso intensivo e indiscriminado de plaguicidas para controlar insectos plagas (Falcon, 1973; Falcon y Smith, 1974; Bustillo, 1983; Andrews y Quezada, 1989) ha generado varios problemas como son:

- **El desarrollo de resistencia por parte de los insectos a los insecticidas utilizados.** Este hecho ha sido documentado en más de 300 especies de insectos en el mundo. En Colombia, en los cafetales el uso indiscriminado de aplicaciones de endosulfan han llevado al desarrollo de la resistencia a este insecticida por parte de *Hypothenemus hampei*. El problema no solo se ha desarrollado con los insectos a los cuales va dirigido el insecticida, sino también en los sitios adyacentes. Por ejemplo, en Centro América el uso continuo de plaguicidas para el control de plagas en algodón ha producido resistencia en un mosquito que transmite malaria, *Anopheles albimanus*, que habita muchos tipos de vegetación que incluye algodonales.
- **El resurgimiento del insecto atacado después de aplicar el insecticida recomendado.** Esto implica la necesidad de aplicaciones repetidas del plaguicida para reprimir la plaga cada vez que vuelve. En California las poblaciones de *Heliothis zea*, frecuentemente resurgen después de aplicar monocrotofos.
- **El surgimiento de otros insectos que se convierten en plagas.** Esto ocurre por la destrucción de enemigos naturales que mantienen sus poblaciones controladas. Estas especies pueden convertirse en plagas secundarias, que también requieran medidas de control. Las aplicaciones que se hacen en California para el control de *Lygus hesperus* en algodón, eliminan insectos predadores y liberan en esta forma el *Trichoplusia ni* y *Spodoptera exigua*, que aumentan en número y causan severos daños. En cafetales en Colombia la aplicación de insecticidas para el control de *Hypothenemus hampei*, ha ocasionado el surgimiento de plagas como *Leucoptera coffeellum* y *Oligonychus yotheresi*.
- **Alteración ambiental fuera de las zonas tratadas con la generación de nuevos problemas de plagas en cultivos adyacentes o la creación de un problema de plagas donde no existía antes.** Esto ha ocurrido en Centro América con el saltahoja (*Dalbulus maidis*) y la enfermedad del enanismo del maíz, causada por un fitoplasma. Antes de 1955 el vector y la enfermedad estaban aparentemente

presentes pero sin causar problemas, tanto en áreas en donde se cultiva algodón como en otras zonas. Desde 1955, la enfermedad ha interferido grandemente en la producción de maíz, pero solo en las áreas cultivadas con algodón donde los plaguicidas se usan extensivamente.

- **Serios peligros a la salud humana se han creado por el uso de plaguicidas.** Como ejemplo se señala que en Nicaragua han ocurrido más de 3.000 casos de envenenamientos y 400 trabajadores han muerto en campos de algodón, durante los últimos años. En cafetales de Colombia, el uso del endosulfan en un solo año, produjo más de 100 intoxicaciones en la zona cafetera del Quindío (Nivia, 2001).
- **Los residuos tóxicos de los plaguicidas sobre los cultivos para alimentación, son otro riesgo que se genera para la salud humana.** En muchas partes del mundo, muchos cultivos se han perdido debido a cantidades de residuos no permisibles acumulados en estos productos, lo cual los hace inutilizables para el consumo de animales y del hombre.

Todo lo anterior se agravó aún más, con los problemas colaterales de muchos insecticidas, que a pesar de ser muy eficientes en el control de plagas, dejaban residuos tóxicos en el ambiente, en el suelo, en las aguas subterráneas e intoxicaciones de la fauna y del hombre. Por otra parte, los grupos ecológicos que clamaban por un mundo libre de contaminaciones ambientales, intoxicaciones humanas y deterioro de la biodiversidad, obligaron a que otras moléculas, consideradas seguras, también se retiraran del mercado (Nivia, 2001). Estos inconvenientes generaron inquietudes en la opinión pública, en los investigadores, las casas productoras de plaguicidas, los asistentes agrícolas y en los agricultores, para un cambio de mentalidad hacia una agricultura más sostenible y amigable con el medio ambiente. Esta estrategia se basó en lo que se conoce como el control integrado o manejo integrado de plagas, que hace uso en una forma racional de todas las herramientas disponibles para controlar un problema de plagas (NAC, 1969; Rabb y Guthrie, 1970).

La concientización de los agricultores por el manejo integrado de plagas ha ido aumentando gradualmente durante las últimas décadas, ya que se trata de un procedimiento práctico y razonable para tratar los problemas de plagas. En el mundo ya hay muchos ejemplos de programas de MIP en cultivos frutales, algodón, yuca, hortalizas y flores bajo invernadero y en el cultivo del café, con resultados muy satisfactorios para los agricultores (Falcon y Smith, 1974; Álvarez y Durán, 1975; Reyes, 1983; Bustillo *et al.*, 1998). Un ejemplo muy importante ha sido el del algodón en Colombia donde, a causa de las plagas, este cultivo casi desaparece en la década de los setenta en el siglo pasado, debido a la gran dependencia que alcanzó con los insecticidas y el desarrollo de resistencia por parte de las plagas, hasta cuando con la ayuda de entidades gubernamentales se logró establecer casi por mandato un programa de manejo integrado que permitió continuar con esta actividad (Álvarez y Durán, 1975).

Definición del manejo integrado de plagas

El manejo integrado de plagas (MIP), se puede definir como “El uso de una serie de medidas de control (culturales, biológicas y químicas) tendientes a reducir las poblaciones de la plaga o de las plagas que afectan un cultivo, a niveles que no causen daño económico y que permitan su producción y comercialización en forma competitiva. Las medidas de control deben ser compatibles y tampoco deben causar efectos deletéreos a los habitantes de la zona ni a la fauna, ni contaminar el agroecosistema” (NCA, 1968; Andrews y Quezada, 1989; Dent, 1991).

De la anterior definición se deduce que el manejo integrado de las plagas debe utilizar todas las herramientas que se encuentren disponibles para combatirlas, como son prácticas de control cultural, el fomento de la fauna benéfica, la introducción desde su sitio de origen de enemigos biológicos, como parasitoides y entomopatógenos, que jueguen un papel importante en la regulación de sus poblaciones. Recientemente se ha acuñado el nombre de Manejo Integrado del Cultivo (MIC), que no es otra cosa que un MIP en donde se incluyen también todas las prácticas de manejo agronómico del cultivo que sean adversas al desarrollo de la plaga (Bustillo *et al.*, 1998; Bustillo, 2002).



El MIP proporciona una serie de principios y conceptos sobre control de plagas que se integran y en una forma teórica se esbozan para establecer un derrotero ecológico en la solución del problema. Por lo tanto, el MIP es flexible, dinámico, susceptible siempre de mejorarse, aunque su comprensión y adopción por parte de los agricultores puede ser difícil (NCA 1969, Rabb y Guthrie 1970, Andrews y Quezada, 1989).

Requisitos para el establecimiento de un programa MIP

Un programa de manejo integrado está basado en investigaciones previas y observaciones hechas al agroecosistema, para poder generar un plan ordenado y bien fundamentado con hechos comprobados (Bustillo *et al.*, 1998; Harcourt, 1969; Falcon, 1973; Dent, 1991). Por consiguiente se deben llevar a cabo investigaciones que conduzcan a obtener información sobre:

1. Fenología del cultivo en la zona de influencia de la plaga, la cual proporciona información valiosa sobre las épocas de ataque del insecto a través del desarrollo de la planta y la implementación de prácticas agronómicas eficientes para su control.
2. Biología y comportamiento de la plaga, para conocer los puntos débiles que permitan enfocar un control más efectivo.
3. Planes de muestreo, para estimar las poblaciones de las plagas y los umbrales de daño económico. La finalidad es establecer los niveles de población de la plaga que puedan ser tolerados, sin que ocurra una pérdida económica.
4. Factores de mortalidad natural que regulan la abundancia y la dinámica de la población de las plagas, para establecer el papel que pueden jugar en la reducción de las poblaciones de la plaga.
5. Introducción de enemigos exóticos como entomopatógenos, predadores y parasitoides, que se conozca que pueden atacar la plaga.
6. Evaluación individual de los componentes de control, seleccionados para determinar su contribución en el control total.
7. Compatibilidad, armonía y eficacia de los diferentes métodos de control cuando se integran en un programa de manejo integrado.
8. Establecer el impacto que puedan producir los procedimientos de control.
9. Validación del programa de manejo propuesto en cafetales comerciales con la colaboración de extensionistas y agricultores, por medio de la estrategia de Investigación Participativa con Agricultores, IPA.

Para llevar a cabo satisfactoriamente un programa de manejo de plagas es importante contar con personal debidamente capacitado en todos los niveles. En sus estados iniciales se necesitan especialistas entrenados en los principios de biología y ecología así como tener un sentido del enfoque del manejo integrado, y que desarrollen investigaciones para evaluar independientemente los diversos métodos de control de plagas. También deben estar capacitados para conducir investigaciones básicas, que se necesitan para generar la información requerida que se describió anteriormente. Una vez generados los resultados aislados de la investigación, éstos se deben integrar y validar en cultivos comerciales e incluir todos los componentes propuestos para hacer observaciones sobre su comportamiento y eficacia. Estas labores de validación se pueden llevar a cabo a través de la Investigación Participativa con Agricultores (IPA), como se demostró para el caso del cultivo del café en Colombia (Aristizábal *et al.*, 2002, 2004; Posada *et al.*, 2003; Salazar *et al.*, 2003).

Los resultados de investigación deben ir acompañados de un programa de transferencia con extensionistas que hayan vivido también las experiencias de los investigadores, para que las puedan transmitir fielmente y sin problema a los agricultores. Se debe contar con los recursos suficientes para las campañas de divulgación, haciendo uso de los medios escritos, de la radio y de la televisión.

En conclusión, hay que recalcar que los programas de manejo integrado de plagas se desarrollan con lentitud, generalmente basados en un proceso escalonado, y la complejidad del programa surge lentamente. En muchos casos, una simple innovación basada en una buena observación puede producir resultados inesperados.

Conceptos Básicos

Con el fin de unificar criterios es importante definir y aclarar ciertos términos de uso corriente en las actividades de manejo integrado de plagas, y que son utilizados por muchos autores reconocidos (Falcon, 1973; Dent, 1991; Bustillo, 1983; Cardona, 1999; NAC, 1969; Rabb y Guthrie, 1970; Huffaker, 1971; Burges, 1981; De Bach, 1964; Kaya y Stock, 1997).

Ecosistema

Es el sistema en un área, en el que interactúan todos los organismos vivos (animales y plantas) y su ambiente (suelo, clima, refugio). El estudio de los ecosistemas se denomina Ecología.

Agroecosistema

Son ecosistemas agrícolas y se caracterizan porque son establecidos y manejados por el hombre. El agroecosistema puede definirse como una unidad compuesta del complejo total de organismos en una zona de cultivo, juntamente con todo el medio ambiente condicionante y además, modificado por las diversas actividades de índole agrícola, industrial, recreacional y social del hombre. Los agroecosistemas son muy variables en relación a su estabilidad, complejidad y tamaño. Se encuentran normalmente en un proceso de evolución por la intervención permanente del hombre, debido a los cambios en los sistemas de cultivo, las variedades cultivadas o la forma de controlar las plagas. Por lo tanto, es muy difícil establecer con precisión los límites cuando éstos son muy complejos y albergan plagas migratorias.

Comunidad

Es la parte viviente del ecosistema, por ejemplo, para el caso de los insectos, la comunidad la conforman todos los insectos y las plantas que existen en una determinada área (Posada, 1975).

Población

Se define como un grupo de individuos de la misma especie que ocupa un área de tamaño definido y que tiene todos los requisitos necesarios para que esos organismos puedan vivir (Posada, 1975).

Medio ambiente

Son todos aquellos factores que rodean una población y que pueden causarle fluctuaciones en su densidad. El crecimiento de una población está supeditado a su potencial biótico y la resistencia ambiental.

Potencial biótico

Se refiere a la habilidad de un organismo para reproducirse y aumentar su población sin controles. Esta situación nunca se encuentra en la naturaleza, pero debido a que la potencialidad siempre existe, si alguno de los controles se remueve la población insectil toma ventaja y puede resultar en un brote. La habilidad para reproducirse que tienen algunos insectos en la fase de reproducción es sorprendente.

Resistencia ambiental

Está compuesta por todos aquellos factores del medio ambiente que tienden a reducir la población de un organismo. Estos factores se dividen en dos grupos abióticos y bióticos. Los **abióticos** o físicos los constituyen el clima, el suelo, el aire, el espacio y la luz, y los **bióticos** que están constituidos por los depredadores, los parasitoides y los patógenos.

Control natural

De Bach (1964) define el control natural como “el mantenimiento de una población más o menos fluctuante de un organismo dentro de ciertos límites superiores e inferiores definibles sobre un período de tiempo, por la acción de factores bióticos y/o factores abióticos ambientales. Los límites superiores e inferiores y el promedio de densidad cambiarán apreciablemente sólo si la acción de los factores reguladores se cambia o si algunos son eliminados o se agregan otros nuevos. El control natural no necesariamente indica la existencia de bajas densidades de población. Todas las poblaciones de animales, sin importar su densidad, están bajo cierto grado de control natural”.

Control biológico

Es el uso de organismos vivos como parasitoides, depredadores y patógenos o de sus productos para prevenir o reducir las pérdidas o daños causados por los insectos plaga. Estos organismos vivos pueden ser: parasitoides, depredadores, patógenos, antagonistas o competidores.

La principal diferencia con el control natural es que en este control no existe la intervención del hombre, mientras que con el control biológico es indispensable la intervención del hombre para su ejecución.

El parasitismo es un proceso por el cual una especie sobrevive a expensas de otras especies. A continuación se presentan las relaciones existentes entre los parásitos y los insectos:

1. Insectos parasitoides

Estos insectos depositan un huevo dentro o cerca de su insecto huésped y las larvas que emergen se desarrollan dentro o fuera de los insectos, por lo que se les denomina endo o ectoparasitoides, respectivamente. El parasitoide pasa su estado larval en el insecto plaga, y éste muere al final de su desarrollo. Cuando el parasitoide llega a adulto es de vida libre y puede tener hábitos diferentes a los inmaduros, puede alimentarse del néctar de las flores o depredar otros organismos. Cada parasitoide utiliza sólo un huésped durante su ciclo de vida. Este grupo está muy bien representado en los órdenes Hymenoptera y Diptera.

Por lo general, los parasitoides son más específicos que los depredadores, y a diferencia de los parásitos pueden dispersarse activamente en busca de sus presas. Por estas razones tienen una gran importancia como agentes de control biológico de insectos plaga, principalmente en la agricultura.

2. Depredadores de insectos

Los depredadores cazan y causan la muerte de los insectos plaga. El depredador se caracteriza por consumir muchos insectos durante su vida y es muy común entre los insectos; existen cerca de 32 grupos que atacan plagas en cultivos agrícolas.

3. Patógenos de insectos

Los patógenos son un grupo de microorganismos que al invadir los insectos tienen la capacidad de causarles una enfermedad. Por lo general, los microorganismos patogénicos invaden y se reproducen en el insecto y se les denomina entomopatógenos. Se transmiten a los insectos por contacto directo, ingestión y por transmisión de una generación a otra. Los microorganismos que pueden causar enfermedades en insectos pertenecen a los grupos de entomovirus, bacterias, hongos, protozoarios y entomonematodos.

Entomovirus. Son partículas diminutas, no celulares, que al ser ingeridas por organismos vivos se tornan parásitas. La infección viral en los insectos ocurre por vía oral, al ingerir alimento contaminado con el virus. El virus ingresa al intestino y de ahí atraviesa la pared intestinal para reproducirse y dispersarse en toda la

cavidad hemocélica. La replicación del virus en los tejidos susceptibles del insecto causa desintegración de éstos y las larvas se tornan blandas y muy frágiles. Los insectos infectados por un virus muestran síntomas de inapetencia, el integumento se torna más claro y normalmente el estado larval se prolonga y es menos activo. En estados más avanzados de la infección se produce la muerte. En la naturaleza existe una gran diversidad de virus entomopatógenos, hay cerca de 16 familias identificadas, y las más importantes son: Baculoviridae, Poxviridae, Ascoviridae, Reoviridae e Iridoviridae.

Baculoviridae es quizás la familia más estudiada y a ella pertenecen los grupos de virus de la poliedrosis y granulosis, que afectan muchos insectos lepidópteros e himenópteros. Estos virus se caracterizan por presentar cuerpos de inclusión de diferentes formas que los protegen contra factores ambientales, como radiación, temperaturas y humedades. En el interior de estos cuerpos se encuentran las partículas infectivas o viriones. Este tipo de virus sólo se ha encontrado en insectos y son probablemente el grupo de microorganismos más exitoso en programas de manejo integrado de plagas.

Bacterias. Son organismos procariotas unicelulares sin un núcleo definido por una membrana nuclear. Las infecciones bacterianas en insectos ocurren especialmente por la ingestión de comida contaminada y luego invaden la cavidad hemocélica a través del intestino de los insectos. Se reproducen en la hemolinfa de los insectos causando septicemias que matan su huésped. Esta muerte se puede acelerar con algunas bacterias que además de invadir el insecto producen toxinas.

Los estados larvales de los insectos infectados con bacterias se tornan oscuros y pierden turgencia, mientras que los órganos internos se desintegran y presentan una consistencia acuosa caracterizada por un olor putrefacto.

Las bacterias del género *Bacillus*, que forman esporas, presentan las mejores condiciones para su uso en programas de control biológico, ya que la espora les asegura una mayor permanencia en los sitios donde se dispersa. *Bacillus popilliae* infecta larvas de coleópteros especialmente del tipo de las chisas, que se encuentran en el suelo atacando sistemas radiculares de las plantas. *Bacillus sphaericus* es usada para el control de mosquitos Culicidae. Una de las bacterias más conocidas es *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* que afecta lepidópteros, *B. thuringiensis* var. *israeliensis* afecta diferentes familias de Diptera y *B. thuringiensis* var. *tenebriones* afecta algunas larvas de Coleoptera.

Muchos estudios se han llevado a cabo con *B. thuringiensis*, con registros de más de 30 subespecies y aislamientos de muchas cepas. Esta bacteria produce una proteína tóxica conocida como cristal paraesporal o delta endotoxina, que es la que causa la enfermedad en el insecto.

Hongos. Son formas eucarióticas, unicelulares o multicelulares, con un núcleo claramente definido por una membrana. Los primeros organismos que se identificaron como causantes de enfermedades en insectos fueron los hongos, debido a que era posible observar su crecimiento en la superficie de los insectos.

Los insectos generalmente son infectados por las esporas o conidias (unidades reproductivas) de los hongos. El hongo penetra el insecto por ruptura del integumento y en algunos casos a través de sus aberturas naturales (cavidad bucal, espiráculos). El modo de penetración depende de las propiedades de la cutícula de los insectos, pero generalmente, las esporas germinan y producen una hifa que penetra la cutícula del insecto por medio de la producción de enzimas. Dentro de la cavidad del cuerpo del insecto, el hongo se multiplica en forma de fragmentos cortos o cuerpos hifales, los cuales se diseminan a todas partes del insecto, y eventualmente destruyen órganos internos. La muerte del insecto ocurre por deficiencias nutricionales, invasión y destrucción de sus tejidos, así como por las sustancias tóxicas que produce el hongo. Luego, el hongo produce estructuras reproductivas y sale del insecto para su diseminación.

Los hongos entomopatógenos están presentes en todas las clases de hongos conocidas, los más ampliamente distribuidos pertenecen a los Deuteromycetes y Entomophthorales. Los Deuteromycetes, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, agentes causales de las enfermedades en insectos, conocidas como muscardina blanca y verde, respectivamente, son muy importantes por su amplio potencial de aplicación como biocontroladores.

Protozoarios. Incluyen un heterogéneo grupo de microorganismos. Existen alrededor de 1.200 especies de protozoos, de 15.000 descritas, que están asociadas a insectos. Los protozoos entomopatógenos se encuentran comúnmente en el tracto digestivo de los insectos como comensales o en asociaciones mutualistas. La mayoría de los protozoos entomopatógenos entran al insecto por la boca y luego alcanzan el tracto digestivo. La penetración por la cutícula ocurre en algunos casos. El estado infeccioso del protozoo es generalmente una espora, que luego de pasar por el intestino penetra el hemocelo y termina en la hemolinfa en donde puede permanecer de forma extracelular o puede penetrar las células de órganos y tejidos, y causa la patología. Para estos microorganismos no se ha registrado la producción de toxinas. La infección se caracteriza porque los insectos se tornan cloróticos o blancuzcos, su tamaño se reduce y permanecen en estado inmaduro. La gran cantidad de esporas de los protozoos que se encuentran en el tejido graso y la hemolinfa hace que estas estructuras se vean blancas. El integumento de los insectos muertos permanece firme y no se desintegra. Los protozoarios entomopatógenos más importantes incluyen las microsporidias del género *Nosema* spp. y los eugregarinos, que pueden causar infecciones letales. *Nosema* ha sido usado, y tiene potencial, para controlar saltamontes y en algunas plagas de granos almacenados.

Entomonematodos. En la literatura mundial, se registran más de 40 familias de nematodos asociadas a insectos. Sin embargo, las especies consideradas con potencial para el control de plagas son las pertenecientes a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae. El hábitat de estas especies de nematodos entomopatógenos es el suelo y se consideran parásitos eficientes de insectos ya que matan a su hospedante durante las siguientes 48 horas después de infectarlo.

Por lo general, las especies de estas dos familias presentan un ciclo de vida simple: huevo, cuatro ínstares de estados juveniles y dos sexos en el adulto. El tercer ínstar del estado Juvenil Infeccioso (JI), se encarga de buscar al hospedante. Los JI se introducen en el insecto por sus aberturas naturales (boca, ano o espiráculos). Los JI de heterorhabditidos también pueden infectar los insectos atravesando la cutícula, gracias a una estructura queratinosa que se asemeja a un pequeño diente. Una vez en el interior del insecto, los JI alcanzan el hemocelo. Luego, el JI "inyecta" en el hemocelo del insecto su simbionte, una bacteria localizada en el tracto digestivo de los estados juveniles infectivos del nematodo.

Steinernema spp., debido a cambios en la composición bioquímica del insecto, causados durante la multiplicación del simbionte en el hemocelo, pasa al siguiente estado J4, el cual se alimenta del insecto, y a partir de éste se desarrollan los adultos: hembra y macho. Una vez los adultos han madurado, se presenta la cópula y a partir de los huevos fecundados, localizados en el interior de las hembras, se desarrollan los estados J1 con posterior desarrollo a J2 y J3; estos últimos, salen de las hembras ejerciendo una presión mecánica desde su interior, lo que causa su rompimiento. Si la reserva de alimento que proporciona el hospedante no es suficiente, el J3 adquiere la bacteria simbionte, se alimenta de los tejidos del cadáver del insecto y lo abandona, para iniciar la búsqueda de un nuevo hospedante.

En *Heterorhabditis* el desarrollo del JI, después de haber alcanzado el hemocelo del insecto y liberado el simbionte, continúa con el J4; éste a diferencia de *Steinernema*, se desarrolla en un adulto hermafrodita. En estos adultos, los huevos autofecundados, dan lugar a estados juveniles J1, con el posterior desarrollo en J2 y J3, de manera similar a lo mencionado anteriormente. Lo particular de esta familia es que en la segunda generación de adultos (formados de progenie de estados infectivos) se desarrollan machos y hembras.

En los últimos años se han realizado trabajos que han permitido conocer ampliamente sobre la biología de los insectos huésped y su epidemiología, dando las bases para avanzar en los procesos de su producción, formulación y métodos de aplicación (Ricci *et al.*, 1996). Lo anterior, ha permitido incorporar a los nematodos entomopatógenos con éxito en programas MIP.

Dinámica de poblaciones

Es la rama de la ecología que investiga las causas de los cambios en las poblaciones y el mecanismo del control natural de estas poblaciones (Milne, 1962).

Tablas de vida

Es una presentación sistemática de la mortalidad y supervivencia en una población. La tabla de vida de un insecto se debe realizar durante varios años en un mismo sitio, con el fin de aumentar nuestro entendimiento de la dinámica de una población de insectos y al mismo tiempo revelar los períodos más oportunos para el manejo de la plaga, y así influenciar la tasas de supervivencia (Harcourt, 1969).

Índice de umbral económico

Es la densidad de la población del insecto a la cual se deben realizar medidas de control para prevenir que la plaga alcance el nivel de daño económico (Stern, 1973). Es decir, el umbral económico es el punto en el cual la densidad de insectos (o plagas) presentes, está apenas por debajo de aquel límite en el que el costo y el daño hecho en el valor del cultivo igualan el costo del tratamiento.

Nivel de daño económico

Es la densidad más baja de la población de una plaga que causaría un daño económico. El daño económico es aquel que justifica los costos de las medidas de control, de aquí que este nivel varíe de acuerdo con el cultivo, el área y la variación del precio de los insumos y mano de obra (Stern, 1973).

Posición general de equilibrio

Es el promedio de la densidad de una población durante un período en ausencia de cambios permanentes del medio ambiente (Álvarez, 1975).

Muestreo

Antes de decidir sobre una medida de control es necesario hacer un reconocimiento y conteo de la población para determinar su abundancia. Estos conteos no se hacen sobre toda la población, ya que sería imposible llevarlos a cabo, por lo cual se efectúan mediante muestreos de la población en diversos lugares del cultivo. La evaluación debe incluir también la fauna benéfica que esté actuando sobre la plaga. La información que se obtenga del muestreo debe estar relacionada con los índices previamente establecidos de daño económico con los cuales se establece la necesidad del control.

Métodos de control de plagas

El manejo integrado de plagas, como se indicó anteriormente, se basa en el uso inteligente de varios métodos de control, tendientes a disminuir al mínimo el uso de los insecticidas de síntesis, a incrementar los agentes biológicos y como consecuencia proteger la fauna benéfica existente en el agroecosistema. Los métodos de control que se deben tener en cuenta en un programa de manejo integrado son (Dent, 1991; NAC, 1969; Falcon, 1973; Cardona, 1999):

Control natural

Permite y fomenta al máximo los enemigos naturales que normalmente afectan una plaga.

Control biológico

Está relacionado con la liberación de parasitoides y depredadores para el control de una determinada plaga. Se incluyen también aplicaciones de formulaciones de bacterias, hongos, virus y entomonematodos para el control de insectos. Esta práctica se debe hacer en una forma coordinada, con el fin de que otros métodos de control no interfieran con su ejecución y eficacia.

Control químico

Se usan insecticidas químicos para reprimir las plagas, sólo en casos necesarios, cuando la plaga alcanza los índices de umbral de daño económico y no existe otra forma de impedir el daño al cultivo. Debe ser selectivo y se deben usar dosis bajas, con el fin de que se ejerza control y que no se destruya la fauna benéfica. En esta forma se ocasiona el menor daño posible al agroecosistema.

Control cultural

Se basa principalmente en una buena preparación del terreno, control de arvenses agresivas, rotación de cultivos, períodos cortos de siembra en una región y uso de variedades resistentes o tolerantes a la plaga, siempre y cuando sea posible obtenerlas.

Control físico

Se refiere a métodos mecánicos para remover o eliminar una plaga. Normalmente estos métodos son costosos y poco utilizados. Sin embargo, en cultivos de café se ha validado el uso de aspiradoras mecánicas para recoger del suelo los frutos de café infestados por broca¹.

Control legal

Todos los programas de manejo integrado deben basarse en medidas gubernamentales coercitivas, que garanticen el empleo de estas medidas en toda la región. Ejemplo de esto es la resolución No. 306 de 1973, que el Ministerio de Agricultura de Colombia expidió reglamentando el control de plagas en el cultivo del algodón. Además, se requiere un control del gobierno en la calidad de los insumos, las cuarentenas, vedas, movimientos de material vegetativo y destrucción de zocas.

Para el caso de la broca del café en Colombia, también han existido normas legales para contrarrestar este insecto. Además de las medidas que se tomaron para evitar su ingreso al país, una vez que se registró y estableció el insecto, el ICA emitió la Resolución 1986, de julio de 1992, que obliga a realizar prácticas como la cosecha total de frutos secos y sobremaduros, la cosecha periódica y el beneficio oportuno de los frutos cosechados, y no transportar frutos infestados a sitios libres de la plaga.

Clases de plagas en los cultivos

El término plaga se refiere a aquellos insectos u otros organismos como ácaros, arañas, babosas o pájaros, que dañan o compiten con el hombre por el alimento o los bienes que éstos intentan producir. El daño que las plagas pueden infligir a un cultivo puede variar desde pequeñas manchas que deterioran la calidad de un producto hasta la pérdida total del cultivo. Las medidas para reducir el impacto de las plagas en los sistemas agrícolas varían de acuerdo con su comportamiento, forma de ataque y la respuesta de las plagas a las condiciones creadas por el hombre (Saunders *et al.*, 1998).

Las plagas en los cultivos se pueden agrupar en seis clases, de acuerdo con su comportamiento y las actividades que se deben desarrollar para evitar su daño (Saunders *et al.*, 1998; Cardona, 1999):

Plagas endémicas

Son muy constantes, se registran año tras año en los cultivos, y se espera que causen algún daño o pérdida económica. Presentan poca fluctuación en sus poblaciones de un año al otro. Tienen una fauna benéfica presente que normalmente es insuficiente, lo que permite que la plaga alcance poblaciones a niveles que causan daño económico. Por lo general, se requiere tomar medidas para el control de sus poblaciones. En Colombia se pueden citar los casos de *Spodoptera frugiperda* en maíz, *Anthonomus grandis* en algodón y *Trialeurodes vaporariorum* en frijol.

Plagas esporádicas

Se registran normalmente en un nivel muy bajo o pasan desapercibidas, pero son capaces de incrementar sus poblaciones repentinamente como respuesta a condiciones de clima que les son favorables. En los cafetales

¹ LÓPEZ, H. A.; OLIVEROS, C.; BUSTILLO, A. E.; DUQUE, H. 2005. Evaluación de la Recolección de frutos de café caídos en la cosecha con la aspiradora Cifarelli V77S en esquema de Investigación Participativa (IPA). Informe interno Cenicafé. 15 p.

esto ocurre con la arañita roja, *Oligonychus yothersi*, y el minador de las hojas del cafeto, *Leucoptera coffeellum*, durante épocas de sequía en la zona cafetera.

Plagas inducidas

Son aquellas que el hombre genera como consecuencia de un manejo inapropiado de sus cultivos. Ejemplo de éstas son los brotes de defoliadores geométridos del género *Oxydia* en cafetales del Quindío.

Plagas de irrupción

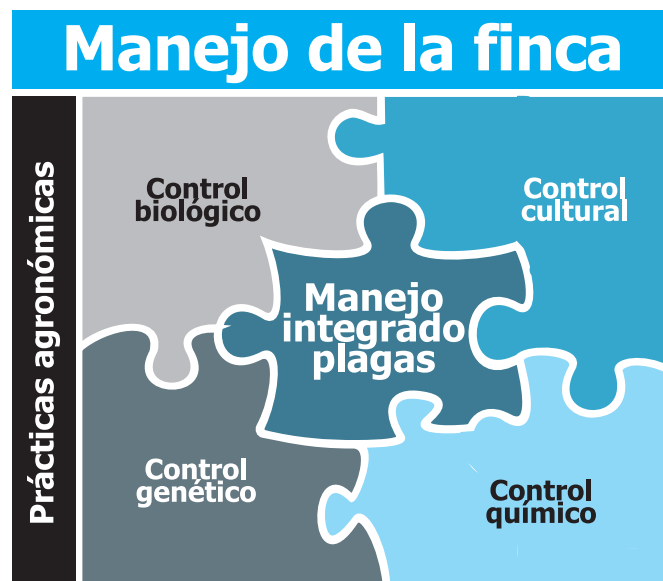
Son plagas que se originan en cultivos vecinos o en otros huéspedes silvestres y pueden moverse a cultivos aledaños e invadirlos. Las invasiones son generalmente de corta duración, son locales y tienden a ocurrir en la misma época del año. Ejemplos son los gusanos ejército, que a veces invaden cultivos de leguminosas, yuca y maíz, y que actúan como trozadores o defoliadores (*Mocis latipes*, *Erinnyis ello*, *Anticarsia gemmatalis*, *Spodoptera frugiperda*, *Agrotis ipsilon*).

Plagas clave

Son aquellas especies que se consideran las plagas más importantes en un cultivo y que su mal manejo puede generar otros problemas en el cultivo afectado. Aparecen todos los años en poblaciones que amenazan el cultivo con pérdidas económicas. Este es el caso de la broca del café en los cafetales de casi todo el mundo.

Plagas vectoras

Las plagas o insectos vectores se caracterizan porque en la mayoría de los casos no hacen un daño muy evidente a la planta, debido a que se presentan en bajas poblaciones, pero tienen una capacidad de transmitir enfermedades a las plantas. Son muy importantes cuando ellas y el patógeno que transmiten están presentes simultáneamente. En estos casos la única manera eficaz de evitar pérdidas es sembrando variedades resistentes al vector o resistentes a la enfermedad. También se puede ayudar al control eliminando huéspedes alternos y con la rotación de cultivos. En esta categoría se encuentran muchas especies de Aphididae y Cicadellidae.



Manejo integrado del cultivo

El enfoque del manejo integrado de plagas debe contemplar no solo la factibilidad del control de la plaga sino ampliarse al manejo del cultivo. El fin de los agricultores no es controlar plagas sino producir competitivamente sus productos, y existen muchas prácticas que puede implementar en el manejo de su cultivo que evitan que las poblaciones de insectos plaga se incrementen. Entre estas múltiples prácticas agronómicas (Saunders *et al.*, 1999; NAC, 1969; Rabb, y Guthrie, 1970; Hill, 1975; Bustillo, 2002) se enumeran algunas a continuación:

1. La siembra temprana y simultánea de un cultivo sobre una gran extensión de terreno permite un desarrollo máximo al cultivo antes de que se presenten poblaciones de insectos que alcancen niveles críticos, que afectarían seriamente los cultivos si éstos se encontraran en un menor desarrollo fisiológico. Esto puede ocurrir con *Contarinia sorghicola* en el cultivo del sorgo.
2. La rotación de cultivos con otro que no sea similar puede reducir la reinfestación de insectos que se encuentren en el suelo. Esto sólo es aplicable a plagas que tienen una sola planta huésped o muy pocas, es el caso de los ataques por nematodos fitoparásitos.
3. La siembra intercalada con un cultivo diferente puede reducir las densidades de plagas de ambos cultivos debido a la interferencia química y mecánica.
4. Permitir las coberturas vegetales en cultivos en ladera como el café, no solo protegen el suelo de la erosión sino que son albergue de la fauna benéfica que ataca las principales plagas de este cultivo.
5. La sanidad en los campos cultivados, para lo cual se debe retirar de los campos los residuos de cultivos, huéspedes alternos y malezas que pueden alojar poblaciones de insectos.
6. La labranza o buena preparación del suelo puede destruir las poblaciones de insectos del suelo como las chisas y trozadores, y exponer sus larvas a los depredadores. Es muy común en el Valle del Cauca la depredación de estas larvas por garzas en cultivos de maíz, sorgo, algodón, etc.
7. La cosecha anticipada reduce el tiempo en que están expuestas las partes más valiosas de un cultivo al ataque de las plagas. Esto es importante con cultivos de granos que son atacados por pájaros o plagas que se manifiestan cuando el grano se almacena, también con los cultivos de tubérculos que quedan expuestos a insectos del suelo.
8. Lograr mantener el campo del cultivo libre de vegetación antes de realizar la siembra, durante un tiempo suficiente para que los insectos que se encuentren en el suelo mueran por falta de alimento. En algunas regiones se reglamenta una veda durante la cual ciertos cultivos no se producen, con el propósito de romper el ciclo de la plaga, al no tener un sustrato donde alimentarse.
9. El uso de variedades resistentes o tolerantes: son la mejor forma de controlar enfermedades transmitidas por insectos, bien sea porque existan variedades resistentes o tolerantes a la enfermedad o hacia el insecto.
10. Para el fomento de la fauna benéfica puede ser útil mantener algunas arvenses melíferas en los cultivos, las cuales proporcionen refugio y alimento a los enemigos naturales de una plaga. En estos casos, si se usan insecticidas de síntesis es importante hacer aplicaciones localizadas y dirigidas sólo a la planta afectada para minimizar el efecto dañino sobre los enemigos naturales. Al hacer las aspersiones por parches se puede lograr una mayor supervivencia de la fauna benéfica.
11. Incrementar la densidad de siembra, especialmente donde se espera un ataque de plagas del suelo como los trozadores, esta mayor densidad compensa la pérdida de plántulas. Luego, es necesario hacer un raleo hasta alcanzar la densidad requerida.

12. En algunos casos se puede acudir al raleo y destrucción de plantas altamente infestadas que de otra forma contribuirían a que las pérdidas fueran mayores.

Recomendaciones para un buen uso de plaguicidas

Para lograr un mayor beneficio al utilizar cualquier tipo de plaguicida es importante tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

1. Use productos selectivos: Para esto se deben conocer las épocas críticas en las cuales las plagas son más vulnerables a la aplicación de un insecticida.
2. Utilice la información sobre los umbrales de daño económico basados en la información de investigación realizada para este propósito.
3. Use el insecticida apropiado para la especie de insecto que desea controlar y evite productos de amplio espectro. Los insecticidas sistémicos son menos dañinos a los insectos benéficos, pero se debe tener en cuenta el período de carencia, especialmente en cultivos donde el follaje o los frutos son para el consumo humano. Es importante en cultivos de exportación saber cuáles son los productos permitidos.
4. Se debe ceñir a las dosis recomendadas y evitar mezclas de insecticidas, la duplicación de dosis o la dilución para cubrir un área más grande de lo que la cantidad del producto debe cubrir, ya que esto puede generar resistencia.
5. Aplicar los insecticidas en una forma localizada en los “focos”, para reducir el costo del control y preservar parte de la fauna benéfica para el control de las plagas.
6. Se deben mantener los equipos de aspersión en un buen estado de funcionamiento, con las boquillas de descarga adecuadas. Por otra parte, es importante no solo la calibración de los equipos sino la calibración de los operarios, con toda la indumentaria apropiada de protección.

El control biológico en el MIP

El control biológico con entomopatógenos

El control biológico puede jugar un papel muy importante en un programa MIP, para eso es indispensable conocer muy bien el insecto que se va a controlar y el agente de control biológico que utilizará.

Las formulaciones de entomopatógenos basadas en bacterias, hongos y virus se pueden utilizar con un enfoque de control a largo o corto plazo. El control a largo plazo se usa cuando las plantas afectadas por una plaga pueden soportar un nivel de daño alto o con aquellas plantas que su valor económico es relativamente bajo. Esta estrategia se ha empleado con éxito utilizando hongos (*B. bassiana*), bacterias (*B. thuringiensis*) y *Baculovirus*, en cultivos perennes como forestales, frutales y pastos, en los casos en que el patógeno se encuentra en el agroecosistema en forma natural y al aplicarlo se logra una mayor eficacia en menor tiempo (Tanada y Kaya, 1993; Huffaker, 1971; Burges y Hussey, 1971).

La estrategia del control a corto plazo es más apropiada contra insectos que hacen el daño en plantas con un valor económico alto o que no pueden soportar niveles de daño muy altos. Bajo estas circunstancias el agente de control biológico se aplica como si fuera un insecticida químico y por lo general, hay que hacer varias aspersiones. Las formulaciones de *B. thuringiensis* se han usado bajo esta estrategia contra lepidópteros en cultivos de hortalizas y contra defoliadores en forestales (Bustillo, 1979; Burges, 1981; Tanada y Kaya, 1993).

Factores que determinan la eficacia de un entomopatógeno

Dosis

Existe un mínimo de unidades infectivas de los entomopatógenos que se requieren para poder iniciar la infección en un insecto. Para estos organismos también se aplican los conceptos de dosis letal y número mínimo de unidades capaces de causar la muerte al insecto. Por lo tanto, antes de usar uno de estos agentes de control, es necesario tener información experimental sobre la concentración, la viabilidad, la dosis y la eficacia sobre el insecto que se tratará. También se debe conocer con certeza el momento oportuno de realizar la aspersión con equipos y personal calibrados (Tanada y Kaya, 1993; Burges, 1981).

Tiempo de aplicación

La escogencia del momento adecuado de aplicación es fundamental para el éxito del control. Si los insectos no están presentes en el estado en que son susceptibles al entomopatógeno o si las condiciones climáticas no son las adecuadas para la sobrevivencia del biocontrolador, el control no tendrá éxito. La temperatura, las condiciones de luz ultravioleta, a la cual los entomopatógenos son muy sensibles, y la humedad son otros factores para considerar.

Cubrimiento

Es indispensable lograr un buen cubrimiento en el cultivo con la aspersión del producto biológico, ya que la mayoría de patógenos deben ser ingeridos o deben estar cerca o en contacto con la cutícula de los insectos.

pH

Cuando se asperja un producto biológico en una suspensión acuosa, el agua debe tener un pH cercano a siete, en caso contrario el producto puede perder su viabilidad.

Edad del insecto

Durante el ciclo de vida de los insectos, en general, los primeros instares son más susceptibles a los entomopatógenos.

Compatibilidad

Es importante tener en cuenta la compatibilidad del biocontrolador con otros métodos de control, como son las aplicaciones de insecticidas químicos, la liberación de parasitoides o algunas prácticas de control cultural, para que no interfieran con su eficacia y permanencia en el agroecosistema.

Resistencia

Es posible que los insectos puedan presentar diferentes grados de susceptibilidad hacia un biocontrolador y en algunos casos se ha observado el desarrollo de resistencia, esto último se ha comprobado con *B. thuringiensis* y *Baculovirus*. Sin embargo, existe predisposición genética y variabilidad genética dentro de una población de insectos, que puede determinar la capacidad de una población para adaptarse o no a una estrategia de control (Tanada y Kaya, 1993).

El control biológico con insectos

Existen tres estrategias básicas de aplicación del control biológico con parasitoides y depredadores, éstas son: **introducción, incremento y conservación** (De Bach, 1964; Huffaker, 1971; Dent, 1991; Van Drieche y Bellos, 1996; Saunders et al., 1999).

Introducción

Consiste en la búsqueda, la importación y el establecimiento de enemigos naturales desde el lugar de origen de la plaga, que no se encuentran en el lugar donde ocurre el problema de infestación, para que puedan controlar sus poblaciones. Para lograr la introducción de enemigos naturales se debe:

- Realizar una exploración de los enemigos naturales en el lugar de origen del insecto plaga.
- Identificar la(s) especie(s) encontrada(s), estudiar su biología, hábitos y procedimientos para su reproducción masiva en el laboratorio. Establecer los huéspedes que pueden atacar.
- Mantener el enemigo natural en cuarentena, en el sitio de importación de los insectos introducidos, para evitar que traigan hiperparásitos o sean portadores de microorganismos indeseables.

Incremento

La estrategia de incremento consiste en aumentar artificialmente la población de enemigos naturales, para lograr un mayor efecto y disminuir así la población de las plagas. Esta estrategia se utiliza cuando el control natural está ausente o sus niveles de población son muy bajos para ser eficaces.

En relación con la aplicación y la forma de realizar el control se pueden diferenciar dos estrategias básicas: inoculación, con finalidad preventiva, e inundación, con finalidad curativa.

Inoculación

La inoculación se usa cuando el enemigo natural puede permanecer durante un tiempo en el cultivo. Las liberaciones inoculativas se hacen al inicio del cultivo para colonizar el área, durante la permanencia del cultivo y de esta forma prevenir los incrementos de la plaga. Es posible que se requieran reintroducciones periódicas del agente benéfico. Esta estrategia tiene mucha relación con un control a largo plazo especialmente en cultivos perennes.

Inundación

La estrategia de inundación consiste en liberaciones masivas de los enemigos naturales o introducidos, para la reducción de la población de la plaga a corto plazo, cuando la densidad alcanza niveles de daño económico.

Conservación

La conservación propende mantener la fauna benéfica mediante el manejo del medio ambiente, para crear condiciones que favorezcan la supervivencia y la permanencia de los agentes biocontroladores. Para esto se deben identificar y remediar las prácticas que suprimen los enemigos de la plaga, como es la aplicación indiscriminada de los insecticidas. Por lo tanto, se recomienda utilizar insecticidas de baja toxicidad y reducir la dosis y la frecuencia de las aplicaciones.

Literatura citada

- ÁLVAREZ, J. A. 1975. Sistemas integrados de manejo de plagas. *In*: Curso control integrado de plagas, ICA, Regional 6, Ibagué, Colombia, p. 2 –23.
- ÁLVAREZ, J. A.; DURÁN, A. 1975. Guía para el control de plagas en cultivos de algodón, arroz, maíz, sorgo y ajonjolí. *In*: Curso control integrado de plagas, ICA, Regional 6, Ibagué, Colombia, p. 87– 117.
- ANDREWS, K. L.; QUEZADA, J. R. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: Estado actual y futuro. Departamento de Protección Vegetal, Escuela Agrícola Panamericana “El Zamorano”, Honduras, 623 p.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; SALAZAR, H. M.; MEJÍA, C. G. 2002. Cambios en la adopción de los componentes del manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) a través de metodologías participativas. *Revista Colombiana de Entomología*, 28 (2): 153 -160.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; SALAZAR, H. M.; MEJÍA, C. G.; BUSTILLO, A. E. 2004. Introducción y evaluación de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) en fincas de pequeños caficultores a través de investigación participativa. *Revista Colombiana de Entomología*, 30 (2): 219- 224.

- BURGES, H. D. 1981. Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. London, Academic Press, 949 p.
- BURGES, H. D.; HUSSEY, N. W. 1971. Microbial control of insects and mites. London, Academic Press, 861 p.
- BUSTILLO, A. E. 1979. ¿Qué causa los brotes de *Glena bisulca*?. Recomendaciones sobre su manejo. In: Seminario sobre plagas forestales en Colombia. SOCOLEN, Seccional Antioquia, Medellín, septiembre 6-7 de 1979.
- BUSTILLO, A. E. 1983. El concepto del control integrado. In: Curso internacional intensivo de manejo integrado de plagas en cultivos de algodón, caña de azúcar, yuca y soya. FAO - ICA, Palmira, Colombia noviembre 20 - 25 de 1983, p. 33 - 44.
- BUSTILLO, A. E. 2002. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. FNC, Cenicafé, Chinchiná, Colombia. Boletín Técnico No. 24, 40 p.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA, F. J. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. FNC - Cenicafé. Editorial Feriva S. A. Cali, Colombia. 134 p.
- CARDONA, C. 1999. Entomología económica y manejo de plagas. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, Facultad Ciencias Agropecuarias. 99 p.
- De BACH, P. 1964. El alcance del control biológico. In: Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Ed. P. de Bach, Trad. al español por C. H. Castaños, 1968. Compañía editorial Continental, México, 31 - 48 p.
- DENT, D. 1991. Insect pest management. CAB International, Wallingford, UK, 604 p.
- FALCON, L. A. 1973. Biological factor that affect the success of microbial insecticides: Development of integrated control. Ann. New York Academic. Sci., 217: 173 - 186.
- FALCON, L. A.; SMITH, R. F. 1974. Manual de control integrado de plagas del algodónero. FAO - AGPP: Misc./8, marzo 1974, p. 7 - 11.
- HARCOURT, D. G. 1969. The development and use of life tables in the study of natural insect populations. Ann. Rev. Entomol., 14: 175 - 196.
- HILL, D. S. 1975. Agricultural insect pests of the tropics and their control. Cambridge University Press, London, 516 p.
- HUFFAKER, C. B. 1971. Biological control. Proc. AAAS Symposium on Biological Control, Boston, Massachusetts, dec. 30 - 31, 1969. Plenum press, New York, 511 p.
- KAYA, H. K.; STOCK, S. P. 1997. Techniques of insect nematology. In: Chap. 6, Manual of techniques in insect pathology. Lawrence Lacey, ed. Biological Techniques Series. Academic Press, San Diego, 409 p.
- KING, A. B. S.; SAUNDERS, J. L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. ODA - CATIE- TDRI. Hobbs the printers of Southampton, 182 p.
- MILNE, A. 1962. On a theory of natural control of insect population. J. Theor. Biol., 3: 19 - 50.
- NAC. National Academy of Sciences. 1969. Insect pest management and control. Principles of plant and animal pest control, vol. 3. Publication 1695, Washington, D. C., 508 p.
- NIVIA, E. 2001. Prohibición del endosulfan en Colombia. Breve historia. Informe Junio 2001. Rapalmira, RAP-AL, Palmira, Colombia. rapalmira@telesat.com.co . 12 p.
- POSADA O., L. 1975. Dinámica de poblaciones. In: Curso control integrado de plagas. ICA, Regional 6, Ibagué, Colombia, p. 34 - 52.
- POSADA, F. J.; SALAZAR, H. M.; ARISTIZÁBAL, L. F.; MEJÍA, C. G.; JIMÉNEZ, M. 2003. Taller de evaluación de *Beauveria bassiana* con caficultores experimentadores para el control de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Revista Colombiana de Entomología, 29 (1): 63-69.

- RABB, R. L.; F. E. GUTHRIE. 1970. Concepts of pest management. Proceedings of a conference held at North Carolina State Univ. at Raleigh, march 25-27, 1970. 242p.
- REYES, J. A. 1983. Yuca: Control integrado de plagas. PNUD – CIAT, Cali Colombia, 362 p.
- RICCI, M.; GLAZER, I; CAMPBELL, J.F.; GAUGLER, R. 1996. Comparison of bioassays to measure virulence of different entomopathogenic nematodes. Biocontrol Science and Technology, 6: 235-245.
- SALAZAR, H. M.; ARISTIZÁBAL, L. F.; MEJÍA, C. G. 2003. Investigación participativa con caficultores en relación con el manejo de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) en el beneficio. Revista Colombiana de Entomología, 29 (1): 57-62.
- SAUNDERS, J. L.; COTO, D. T.; KING, A. B. S.; 1998. Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. 2ª edición, Turrialba, Costa Rica, CATIE- TDRI. Manual Técnico No. 29, 305 p.
- STERN, V. M. 1973. Economic thresholds. Ann. Rev. Entomol., 18: 259 – 280.
- TANADA, Y.; KAYA, H. 1993. Insect pathology. San Diego, Academic Press. 666 p.
- VAN DRIECHE, R. G; BELLOS, T. S. 1996. Biological control. Chapman & Hall. USA. 539 p.



CAPÍTULO 6

El control natural de los insectos

Luis Miguel Constantino Chuaire

El control natural se da espontáneamente en las poblaciones de organismos y mantiene la densidad poblacional en equilibrio dentro de ciertos límites definibles, superiores e inferiores, como consecuencia de la acción conjunta de todo el ecosistema, sin la intervención del hombre. El control natural incluye además de enemigos naturales (factores bióticos), la acción de los factores abióticos del medio ambiente (temperatura, humedad, heladas, sequías, granizo, lluvias, viento) que controlan, reducen o limitan la distribución geográfica y la explosión demográfica de las poblaciones naturales de muchos insectos. La magnitud de estos factores depende del tipo de bioma y del ecosistema en el que se encuentran los organismos, y de la forma en que interactúan, pero la transformación hecha por el hombre en los ecosistemas en muchas partes del mundo, está induciendo cambios de impacto global en las condiciones bióticas y abióticas del planeta, como el efecto invernadero, que es uno de los principales factores del calentamiento global y los fenómenos climáticos El Niño y La Niña, que en ciertas partes del mundo causan severas sequías o exceso de lluvias, los cuales inciden directamente en cambios de la dinámica poblacional de muchos insectos, incluso en áreas donde nunca antes habían existido (Samways, *et.al.*, 1999; Conde *et.al.*, 2006).

Es importante resaltar que los ordenamientos ecológicos de tipo espacial (horizontal y vertical), temporal (la presencia de ciclos), evolutivo (cambios genéticos) y tróficos (cadenas alimentarias), también se manifiestan en los agroecosistemas cualquiera que sea su nivel de complejidad (Romero, 2004).

Dentro de un ecosistema agrícola algunas especies de insectos compiten con el hombre, y se convierten en plagas o en transmisores de enfermedades al hombre o a sus animales. Cuando un organismo dentro de un agroecosistema, extrae más energía que la que el hombre considera adecuada, entonces se convierte en plaga y esto sucede cuando no se tienen o no existen los mecanismos de controles bióticos o abióticos. Los biomas en equilibrios dinámicos permanentes y estables no tienen plagas, a diferencia de los monocultivos que carecen de redes tróficas estables, por lo que son más susceptibles a cualquier fitófago. Los monocultivos son fácilmente alterables y allí las plagas logran alcanzar rápidamente altos niveles poblacionales, al tener la oferta de un nicho alimenticio disponible en grandes cantidades, complementado con factores de perturbación a causa del uso excesivo de plaguicidas, los cuales generan desequilibrios ecológicos al afectar a los enemigos naturales que la controlan. Los factores responsables del crecimiento o decrecimiento poblacional, pueden depender de su densidad poblacional o ser independientes de ella. Para ello es necesario hablar de los factores independientes o dependientes de la densidad poblacional, que regulan o controlan naturalmente las poblaciones de un organismo determinado, llámese o no plaga (Romero, 2004; Bianchi *et al.*, 2006).

Factores independientes de la densidad poblacional

Los factores independientes de la densidad son aquellos que regulan las poblaciones de un organismo en proporciones independientes del tamaño de ésta. Entre éstos tenemos los factores climáticos y del tiempo (temperatura, humedad, luminosidad, pluviosidad, sequía, vientos) y demás factores abióticos de control natural, tales como los siniestros (incendios, inundaciones, etc.) que regulan las poblaciones. Los factores

mecánicos como las barreras geográficas (cordilleras, montañas, océanos y desiertos) que impiden el acceso a nuevas áreas y evitan la dispersión (Romero, 2004). La estructura y la textura del suelo impiden también que ciertos insectos se puedan reproducir o penetrar en el suelo para construir cámaras o galerías. Otros factores como el pH del suelo o del agua impiden que ciertas especies de insectos con estados larvales acuáticos o terrestres se puedan reproducir o vivir. Así mismo, la humedad escasa o excesiva, la temperatura y la luminosidad (fotoperíodo o calidad de luz), influyen en la duración del ciclo de vida de la mayoría de especies de insectos o en el caso de las especies umbrófilas (que habitan sitios sombreados), limitan su desplazamiento a sitios abiertos, donde se pueden deshidratar más fácilmente. Estos factores modifican las poblaciones independientemente de su tamaño (Hill, 1983; Dent, 1991).

I. Ciclos de clima y tiempo meteorológico

Durante períodos de varios años, de un año, un mes o un día, pueden darse fenómenos climáticos o meteorológicos que hacen que las poblaciones crezcan o se reduzcan.

Factores meteorológicos como la lluvia, heladas, sequías, vientos y granizadas, actúan como factores de mortalidad en artrópodos frágiles como los ácaros, los pulgones y los trips. En este sentido el ácaro rojo, *Tetranychus urticae*, y los trips del follaje, *Selenothrips* y *Heliothrips*, son regulados por las lluvias fuertes que los lavan del follaje, razón por la cual estas especies son abundantes en épocas de sequía y en veranos prolongados, pero cuando llegan las lluvias desaparecen o sus poblaciones se reducen notoriamente (Dent, 1991).

El viento y la lluvia afectan negativamente el vuelo y, en consecuencia, la actividad de adultos de insectos, así como la instalación y la supervivencia de las larvas. En particular, la lluvia, al mojar los órganos fructíferos, inhibe la oviposición de muchos insectos sobre éstos. La condensación de agua de rocío sobre el follaje, como consecuencia de la inversión de las curvas de temperatura y humedad, es especialmente importante, porque en determinadas ocasiones constituye la única fuente de agua líquida para los adultos y se conoce que cuando los adultos no disponen de agua para beber se reduce drásticamente el potencial reproductivo de ambos sexos (Romero, 2004).

La incidencia de los factores climáticos sobre las poblaciones de muchas larvas de lepidópteros y coleópteros en regiones con estaciones es bien marcada, en el verano y primavera calientes, los huevos y las pupas se deshidratan, lo que causa alta mortalidad. La temperatura es la variable meteorológica que más incide en el desarrollo de muchas especies, y está relacionada positivamente con la velocidad de desarrollo de los estadios preimaginales y negativamente con la longevidad de los adultos. Además, en las hembras, regula el desarrollo de los huevos y su oviposición. Las temperaturas elevadas sobre huevos y larvas pueden inducir a la dormancia en las pupas. Las altas temperaturas al incrementar la velocidad de desarrollo larvario tiene como efecto que los adultos resultantes sean más pequeños, lo que puede afectar negativamente su potencial reproductivo. Temperaturas por encima o debajo de los límites vitales, originan la muerte del insecto si la exposición es muy prolongada. La temperatura crepuscular regula la actividad de los adultos (Dent, 1991; Romero, 2004).

Las humedades relativas extremas pueden ser limitantes y causar la muerte en los estados de huevo y pupa, especialmente sensibles por su inmovilidad. Las larvas no parecen ser muy sensibles a la humedad, debido a su hábitat y etología. Sobre los adultos, determina fundamentalmente la actividad y longevidad, en particular si no disponen de agua en estado líquido. Ambas variables, temperatura y humedad relativa, varían normalmente de manera antagónica en condiciones naturales, y muestran un efecto sinérgico sobre las poblaciones naturales (Risch, 1987; Schotman y Lacayo 1989).

2. Migración

Es un cambio conductual que depende directamente de la estación (fotoperíodo) y el balance hormonal de la especie. El potencial de generaciones por años ya está programado genéticamente. Los períodos de quiescencia (hibernación y diapausa), el voltinismo (número de generaciones completadas en un año por una

especie) que a pesar de ser un carácter hereditario en muchos insectos, puede ser modificado ante factores externos naturales, como la temperatura, la latitud, la altitud. Cuando el ciclo biológico de una especie se cumple una sola vez en el año se denominan especies monovoltinas, si se da en dos épocas es bivoltina y si el número es mayor se consideran polivoltinas. Estos cinco factores están programados genéticamente en una especie, independientemente del tamaño de su población (Rabinovich, 1980; Romero, 2004).

Otro factor de naturaleza astronómica, el fotoperíodo, provoca la entrada en diapausa, y regula en conjunción con la temperatura, el voltinismo. El desajuste de ambos factores en un año dado, puede ser el origen de una mortalidad importante. Así mismo, la pérdida de agua de las pupas que entran durante la diapausa también puede jugar cierto papel en el potencial reproductivo del insecto. Como consecuencia del fotoperíodo, el crepúsculo determina el ciclo diario de actividad de los adultos. Además, una mayor duración de la fotofase puede incrementar la fecundidad de las hembras (Rabinovich, 1980).

Los factores que regulan la densidad y al mismo tiempo dependen de ella para manifestarse son de carácter coevolutivo como el parasitismo y la depredación, o son de carácter conductual como la competencia interespecífica (entre individuos de diferentes especies por recursos y espacio), o competencia intraespecífica (entre individuos de la misma especie en función del potencial de supervivencia, protección y nutrición) (Romero, 2004).

Factores dependientes de la densidad poblacional

1. Enemigos naturales

Las interacciones más importantes que se dan en los agroecosistemas son las de la plaga con sus enemigos naturales y con sus competidores (entomopatógenos, parasitoides, predadores), es decir, las interacciones que pueden mantener a las plagas bajo control. La interacción con sus enemigos naturales aumenta a medida que aumenta la población de la plaga hasta alcanzar un equilibrio natural, siempre y cuando ese frágil balance no sea perturbado por el hombre (Bianchi *et al.*, 2006).

En la medida en que los agroecosistemas se simplifican por monocultivos extensos, dependientes de grandes cantidades de insumos químicos, la diversidad de enemigos naturales disminuye. La composición del paisaje afecta la diversidad y la abundancia de los enemigos naturales debido a que diferentes tipos de hábitats pueden favorecer diferentes especies de enemigos naturales. Un agroecosistema diversificado puede sostener por lo tanto, mayor cantidad de especies (Bianchi *et al.*, 2006).

2. Competencia interespecífica

Cuando la competencia entre individuos de dos especies simpátricas diferentes es muy alta, una puede ser expulsada o desplazada de su nicho por la otra que la sustituye. La competencia interespecífica más frecuente en agroecosistemas, se genera entre plagas de diferente especie, que al utilizar un mismo recurso y al ser éste limitado se perjudican mutuamente, pero entre más similares sean los requerimientos de las especies involucradas, la competencia será más intensa. Este caso se da con la introducción de una especie foránea que entra a competir por el mismo recurso, con una especie local como es el caso de la mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*), y las especies locales de *Anastrepha* spp., en cultivos de mango y cítricos (Mayr, 1971; Hagen y Bishop, 1979).

3. Competencia intraespecífica

Ocurre cuando la competencia se da entre individuos de la misma especie por alimento, abrigo, cópula o por refugio, en el mismo hábitat; cabe resaltar que la competencia aumenta a medida que lo hace la densidad poblacional. Cuando alguno de estos factores se vuelve una limitante la competencia desaparece (Mayr, 1971).

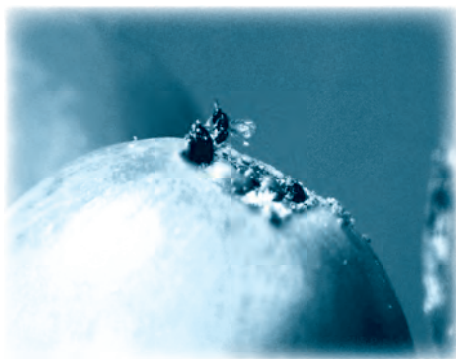
4. Dispersión

La dispersión, entendida como la búsqueda de recursos a partir de un lugar donde empiezan a escasear por aumento de la densidad poblacional, es un fenómeno conductual que depende directamente de la estación (fotoperíodo), hora del día (temperatura) y balance hormonal, para que ocurra con mayor o menor probabilidad y sin que la densidad de las poblaciones modifique su efecto o aparición. Los insectos responden a los cambios ambientales de corto y largo plazo.

El cambio más frecuente en su ambiente es la abundancia relativa del alimento, los sitios de oviposición o de refugio que al cambiar hacen que éstos se desplacen en busca de nuevos sitios para colonizar o hacia hospedantes vecinos para alimentarse, empupar o copular (Romero, 2004).

Literatura citada

- BIANCHI, F. J.; BOOIJ, C. J.; TSHANTKE, T. 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscapes composition biodiversity and natural pest control. *Review Proc. Royal Society*, 273: 1715-1727.
- CONDE, C., VINOCUR, M., GAY, C., SEILER, R. Y F. ESTRADA. 2006. Climatic threat spaces as a tool to assess current and future climate risks: case studies in Mexico and Argentina. The AIACC Project Office. Working paper No. 30. 54 p.
- DENT, D. 1991. *Insect pest management*. C.A.B. International, Oxon, U.K. 604 p.
- HAGEN, K. S.; BISHOP, G. W. 1979. Use of supplemental foods and behavioral chemicals to increase the effectiveness of natural enemies. *In: Biological control and Insect Pest Management*. Bulletin No. 1911. Agricultural Experiment Station. University of California, p: 49-60.
- HILL, D. 1983. *Agricultural insect pests of the tropics and their control*. 2nd edition, Cambridge University Press, p. 17-50.
- MAYR, E. 1971. *Populations, species and evolution*. Harvard University Press, Harvard. 797 p.
- RABINOICH, J. E. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. México, Compañía Editorial Continental, p. 223-239
- RISCH, S. J. 1987. Agricultural ecology and insect outbreaks. *In: P. Barbosa; J. C. Schultz, eds., Insect outbreaks*. Academic Press, New York, p. 217-238.
- ROMERO, F. 2004. Manejo integrado de plagas. Bases y conceptos. Universidad Autónoma de Chapingo, México, p. 51-70.
- SCHOTMAN, C.; LACAYO, L. I. 1989. El Control natural. *In: Manejo integrado de plagas insectiles en la Agricultura*. Andrews, K. L.; Quezada, J. R., eds. El Zamorano, Honduras. p. 315-360.
- SAMWAYS, M.J., OSBORN, R., HASTINGS, H. Y HATTINGH, V. 1999. Global climate change and accuracy of prediction of species' geographical ranges: establishment success of introduced ladybirds (Coccinellidae: *Chilocorus* spp.) worldwide. *Journal of Biogeography*, 26: 795-812.



CAPÍTULO 7

Los parasitoides en programas de control biológico

Pablo Benavides Machado

Definiciones

Insectos parasitoides son aquellos que viven la mayor parte de su ciclo de vida sobre o dentro de un organismo huésped, al cual mata durante el proceso (Romosser y Stoffolano, 1998). Estos insectos son una mezcla de parásitos y depredadores, y por tal razón se han denominado de esta manera.

La mayoría de los parasitoides depositan sus huevos sobre o dentro del insecto plaga huésped (CIBC, 1990). Las larvas emergen y se alimentan del huésped al cual se encuentran asociadas, y lo matan durante su desarrollo. Las pupas se forman sobre, dentro o cerca del huésped, y finalmente emergen los adultos, los cuales son generalmente de vida libre (Romosser y Stoffolano, 1998).

Existen diferentes clasificaciones de los parasitoides de acuerdo a sus hábitos de alimentación, su biología, su comportamiento reproductivo y su asociación con el huésped. De esta manera se definen como **endoparasitoides** aquellos que insertan sus huevos dentro del huésped, mientras que los **ectoparasitoides** ovipositan externamente y sus larvas se desarrollan por fuera del huésped. Se denominan **idiobiontes** a aquellos parasitoides de huevos y pupas, que matan sus huéspedes antes de que emerjan las larvas del parasitoide, y por lo tanto, éstas se desarrollan sobre huéspedes muertos o paralizados. De manera opuesta, los **koinobiontes** son endoparasitoides que ovipositan dentro de un huésped móvil y las larvas del parasitoide se benefician de mantener vivo el organismo para continuar con su alimentación y desarrollo (Van Driesche y Bellows, 1996). Llamamos a un parasitoide **solitario**, si un individuo puede desarrollarse únicamente sobre un estado del huésped, y **gregario** cuando varios parasitoides pueden desarrollarse sobre o dentro de un único huésped.

Otra clasificación tiene que ver con algunos problemas que se presentan en presencia de diferentes individuos o parasitoides en el mismo huésped. **Superparasitismo** se refiere al parasitismo repetido en un huésped por parte de parasitoides de la misma especie (CIBC, 1990). En este estado existe competencia entre los estados ovipositados; sin embargo, un solo estado puede desarrollarse completamente aunque en ocasiones es más pequeño y débil. **Multiparasitismo** es cuando el parasitismo repetido sobre un huésped es causado por varias especies de parasitoides (CIBC, 1990), en éste se impone el parasitoide que tenga mayores cualidades para sobrevivir sobre el estado del huésped. **Hiperparasitismo** se refiere a la parasitación de un parasitoide por otro parasitoide (CIBC, 1990).

En general, el uso de parasitoides en el control biológico de insectos plagas, se basa en la alta especificidad a su huésped. Sin embargo, este tema está siendo revisado actualmente dados los hallazgos sobre huéspedes alternos que han desarrollado estos parasitoides a través del tiempo (Viñuela *et al.*, 2006). En Colombia, con el propósito de determinar si los betílidos parasitoides de la broca del café contaban con huéspedes alternos, se disecó mesocarpo de frutos de *Macadamia* sp., infestados por *Hypothenemus obscurus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae), de una muestra recolectada en un cultivo comercial en Caldas, y se encontraron adultos de *Prorops nasuta* y adultos e inmaduros de una especie no determinada del género *Cephalonomia*. Esta observación sugiere que *P. nasuta* cuenta con un huésped alternativo en el campo, que favorecería el

establecimiento de la especie en zonas de cultivo de café y puede explicar su permanencia en fincas de alta tecnificación, donde se hace recolección periódica de frutos infestados con broca durante épocas diferentes a las cosechas (Cenicafé, 2006).

Órdenes y familias de parasitoides

La mayor cantidad de especies de parasitoides de plagas insectiles se encuentran en los órdenes Diptera e Hymenoptera. Existen algunos representantes en los órdenes Lepidoptera, Coleoptera y Strepsiptera, pero no existen casos en programas de control biológico que los haga considerar de importancia (Van Driesche y Bellows, 1996). Un listado de la fauna benéfica en ecosistemas cafeteros de Colombia se presenta en la Tabla 7.1.

Diptera

Existen ocho familias en este orden que actúan como parasitoides de insectos (Van Driesche y Bellows, 1996). Estas son: Nemestrinidae, Bombyliidae, Phoridae, Pipunculidae, Conopidae, Cryptochetidae, Sarcophagidae y Tachinidae. De estas familias solamente la última ha sido de importancia como enemigo natural de muchos insectos plagas. La mayoría de especies de la familia Tachinidae actúan como endoparasitoides solitarios y no se conocen registros de ser hiperparasitoides (Askew, 1971). Muchas especies han sido introducidas para el control de plagas exóticas. *Lydella thompsoni* Herting fue introducida a Estados Unidos para el control de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Burbutis et al., 1981), y *Cyzenis albicans* (Fallén) fue introducida a Canadá para el control de la especie *Operophtera brumata* (L.) (Embree, 1971). En Colombia, el barrenador de la caña de azúcar, *Diatraea saccharalis* (F.), tiene como enemigos naturales varias especies de la familia Tachinidae, entre las que se encuentran *Lixophaga diatraea* Townsend de origen cubano, la especie nativa *Paratheresia claripalpis* Wulp., y *Metagonistylum minense* Townsend introducida de Brasil. Estas especies se han producido en los ingenios azucareros y son liberadas para el control de *D. saccharalis* (Gómez y Lastra, 1995).

Hymenoptera

Este orden está dividido en dos subordenes, Symphyta y Apocrita. Symphyta, excepto por Orussidae, comprende familias fitófagas, y por lo tanto, no se consideran en este capítulo. El suborden Apocrita está dividido en Parasitica y Aculeata, en este último sólo las familias Bethyidae y Dryinidae son de importancia como parasitoides. En la división Parasitica existen al menos 36 familias que tienen especies parasitoides de importancia en el control de artrópodos (Van Driesche y Bellows, 1996). En esta División dos familias, Encyrtidae y Aphelinidae, han mostrado un control completo o satisfactorio de insectos plagas. A ellas se les atribuye la mitad de los casos exitosos de control biológico de plagas de manera global. Los géneros más importantes en la familia Encyrtidae son *Comperia*, *Hunterellus*, *Ooencyrtus* y *Phenacoccus* (Van Driesche y Bellows, 1996). Los géneros más importantes dentro de la familia Aphelinidae son *Aphelinus*, *Aphytis* y *Encarsia* (Van Driesche y Bellows, 1996). Otras familias importantes de este orden que actúan como parasitoides, incluyen los géneros Eviidae que controlan cucarachas, Chalcididae en el control de pupas de Lepidoptera y Diptera, Eulophidae se registra atacando especies de Coleoptera, Lepidoptera, Diptera e Hymenoptera.

La familia Trichogrammatidae contiene un gran número de especies del género *Trichogramma* que atacan huevos de Lepidoptera; la familia Mymaridae se ha encontrado parasitando huevos de especies de los órdenes Hemiptera, Psocoptera, Coleoptera, Diptera y Orthoptera (Van Driesche y Bellows, 1996). Especies de la familia Ichneumonidae han sido reportadas como ectoparasitoides de larvas y pupas de varios órdenes de insectos y endoparasitoides de larvas y pupas de Lepidoptera. Dentro de la familia Braconidae existen 26 subfamilias de interés en control biológico, las más importantes son: Aphinidiinae como endoparasitoides de áfidos; Meteorinae, Blacinae y Microgasterinae como endoparasitoides de larvas de Lepidoptera y Coleoptera; Euphorinae como endoparasitoides de adultos de Coleoptera o ninfas de Hemiptera; Cheloninae como endoparasitoides de Lepidoptera y Braconinae como ectoparasitoide de larvas de Lepidoptera (Van Driesche y Bellows, 1996).

Insectos parasitoides de la familia Scelionidae se han estudiado poco desde el punto de vista taxonómico (Van Driesche y Bellows, 1996); sin embargo, la especie *Telenomus alsophilae* Viereck se obtuvo a partir de huevos de *Alsophila pometaria* (Harris) (Lep: Geometridae) en el estado de Virginia (USA), y se introdujo y crió masivamente en Colombia para el control del defoliador de pinos y cipreses, *Oxydia trychiata* (Guenée) (Lep: Geometridae), la cual se encuentra actualmente bajo control (Bustillo y Drooz 1977; Drooz et al., 1977). Este parasitoide se ha recuperado a partir de plantaciones de pino, y a éste se le atribuye parte del control de otras plagas como *Oxydia olivata* (Dognin), *Cargolia arana* (Dognin) y *Bassania amethystata* Walker (Lep: Geometridae).

Parasitoides de la familia Pteromalidae ocupan un lugar importante por ser controladores naturales de moscas de la familia Muscidae, como la mosca casera *Musca domestica* (L.), la cual es transmisora de enfermedades, y la mosca de los establos *Stomoxys calcitrans* (L.) (Jiménez, 2001). Existen dos parasitoides de la familia Pteromalidae controladores de pupas de moscas, *Spalangia* sp. y *Muscidifurax raptor* (Jiménez, 2001; Aldana, 1999). Estos parasitoides viven en zonas de basuras y estiércol, donde una hembra copulada de *Spalangia cameroni* vive 14 días y en promedio oviposita 75 huevos, con porcentajes de parasitismo hasta del 88% (Jiménez, 2001). En estudios recientes se ha observado la superioridad de *Spalangia endius* sobre *Muscidifurax* sp. en el control de pupas de *M. domestica* (Inciso y Castro, 2007). Este control se viene utilizando actualmente y con gran éxito en Colombia, donde se producen parasitoides para su comercialización nacional y para otros países latinoamericanos, por parte de laboratorios productores de biológicos (Jiménez 2001). En efecto, Proactiva, una empresa encargada del manejo del basurero Doña Juana de Bogotá, está utilizando *Spalangia cameroni* Perkins como control biológico de moscas comunes, para lo cual se están liberando 70 millones de avispitas que controlan el 95% de los insectos que son atraídos por las 31 millones de toneladas de desechos que han sido depositados a lo largo del funcionamiento del basurero¹.

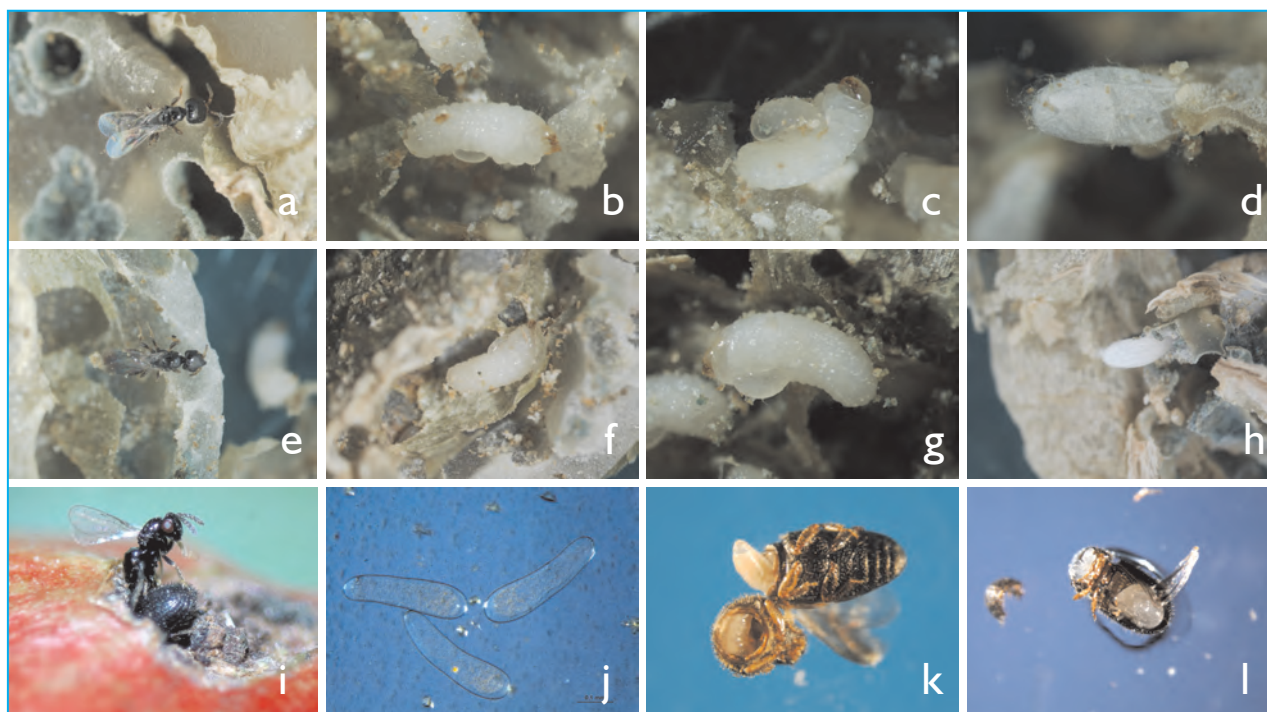
Parasitoides en el control de la broca del café

Después de la llegada de la broca a Colombia, Cenicafe desarrolló un programa de manejo integrado enfocado en estrategias de control biológico (Bustillo et al., 1998). La introducción de parasitoides de origen Africano fue el componente de manejo que mayor atención capturó, ya que el hábito críptico de la broca sólo podía ser vulnerado con el uso de parasitoides en su mismo hábitat. Acto seguido, se introdujeron los betílidos ectoparasitoides *Cephalonomia stephanoderis* Betrem y *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyridae), entre los años 1989 y 1990 (Bustillo et al., 1998). Posteriormente se introdujo el endoparasitoide *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae), en el año de 1995 (Baker, 1999) (Figura 7.1).

Prorops nasuta fue el primer parasitoide usado como controlador biológico en América (Hempel, 1934). Fue introducido a Brasil desde Uganda, en el año de 1929, y se liberó un año más tarde; sin embargo, no existen reportes de posteriores liberaciones, además estos esfuerzos fueron suspendidos con la intensificación del control químico en los años posteriores. *C. stephanoderis* fue descubierto por Ticheler en Costa de Marfil en el año de 1960 (Ticheler, 1963); pero este parasitoide no fue usado como enemigo natural hasta el año de 1988 cuando fue introducido a México y Ecuador (Moore y Prior, 1988). Esta especie fue introducida a Colombia en los años 1989 y 1990, a partir de una colonia mantenida en el Ecuador, así como de parasitoides traídos directamente desde África, después de someterlos en cuarentena en Inglaterra (Bustillo et al., 1998).

Los ciclos de vida de ambos ectoparasitoides son similares y han sido descritos por varios autores. Las hembras de las avispas localizan los adultos de la broca dentro de las cerezas, posteriormente ocurre un enfrentamiento entre ambos adultos, en el cual siempre es exitoso el parasitoide, que succiona la hemolinfa de su presa. Posteriormente, la hembra del parasitoide depreda tanto huevos como larvas de primer instar de la broca, para ovipositar sobre las prepupas y las pupas. Las larvas del parasitoide emergen sobre los estados de la broca parasitados y se alimentan de su huésped, finalmente construyen sus capullos dentro de la almendra de donde emergerán los adultos. Inicialmente, los intentos de cría masiva de estos parasitoides

¹ [Http://www.plazacapital.org](http://www.plazacapital.org)



■ **Figura 7.1.** Parasitoides introducidos a Colombia para el control de la broca del café. **a.** Adulto de *Cephonomia stephanoderis*; **b y c.** huevo y larva de *C. stephanoderis* sobre una larva de broca; **d.** pupa de *C. stephanoderis* dentro de una almendra de café; **e.** adulto de *Prorops nasuta*; **f y g.** huevo y larva de *P. nasuta* sobre una larva de broca; **h.** pupa de *P. nasuta* en un grano de café infestado; **i.** adulto de *Phymastichus coffea* parasitando un adulto de broca que está perforando un fruto de café; **j.** huevos de *P. coffea* extraídos de un adulto de broca; **k.** larvas de *P. coffea* en la cabeza y el pronoto (macho) y el abdomen (hembra) de la broca; **l.** prepupas de *P. coffea* dentro de la broca (Fotos J. C. Ortiz, L.M. Constantino).

se realizaron sobre cerezas infestadas, pero los resultados no fueron satisfactorios. Posteriores intentos permitieron desarrollar una metodología de cría sobre café pergamino seco, con el 45% de humedad (Benavides y Portilla, 1990), y actualmente continúa realizándose de esta manera.

Los estudios en el campo se realizaron a partir de 1991 (Benavides *et al.*, 1994) con *C. stephanoderis*, que fue el primer parasitoide criado exitosamente de manera masiva en el laboratorio; éste fue liberado en ocho parcelas experimentales localizadas en diferentes altitudes (entre 1.240 y 1.630 m), en tres liberaciones durante seis meses, en proporciones de 1:1, 1:2 y 1:3 avispitas por cereza infestada. El parasitismo más alto observado durante los siguientes tres años fue del 60% en la altitud más baja, y se pudo determinar que el parasitoide se estableció en el campo y podía ser usado como controlador natural de la broca del café en Colombia. Las poblaciones de la broca decrecieron como efecto de las liberaciones en el campo.

Durante el mismo año en que se introdujo *C. stephanoderis*, se estableció una cría de *P. nasuta* en el departamento de Nariño, con individuos traídos desde Ecuador, los cuales eran originarios de Kenia (Benavides *et al.*, 2002; Klein *et al.*, 1988). En 1996 las crías de parasitoides mantenidas en Nariño se trasladaron a los laboratorios de Cenicafe en Chinchiná - Caldas, y se realizó una nueva introducción de *P. nasuta* directamente desde Brasil, donde la especie llevaba alrededor de 60 años de adaptación, desde su introducción en el año de 1929. Las primeras liberaciones de estos parasitoides en el campo se realizaron en Nariño, con bajas cantidades (Bustillo *et al.*, 1996), pero cinco años después de estas liberaciones se demostró su establecimiento en el campo, con una mayor presencia en los lotes muestreados, mayores niveles de parasitismo y mejor adaptación a intervalos altitudinales en *P. nasuta* que *C. stephanoderis* (Quintero *et al.*, 1998). Posteriormente, entre los años de 1994 y 2000, se liberaron alrededor de 1.800 millones de individuos de *C. stephanoderis*, y entre 1997 y 2000 cerca de 500 millones de *P. nasuta*, en 17 departamentos cafeteros de Colombia (ICA, 1999).

Tanto en Colombia como en otros países Centroamericanos y en África, se han reportado valores variables de éxito de estos parasitoides (Aristizábal *et al.*, 1998; Barrera, 1992; Benavides *et al.*, 1994; Castillo *et al.*, 2006; Infante, 1998; Infante *et al.*, 1994, 2001; Quintero *et al.* 1998; Salazar *et al.* 2007; Vega *et al.*, 1999); sin embargo, en un estudio reciente realizado con el propósito de determinar el establecimiento de estos parasitoides en la zona cafetera colombiana después de 15 años del inicio de sus liberaciones en el campo (Cenicafé, 2006), se recolectaron muestras de café infestado por broca en 80 fincas de 17 municipios de los departamentos de Nariño, Quindío, Risaralda y Norte de Santander. A pesar de la gran diferencia en el número de individuos liberados de ambas especies, en las muestras evaluadas no se encontró *C. stephanoderis*, mientras que *P. nasuta* se reportó en todos los departamentos muestreados y en el 65% de las fincas evaluadas, con un intervalo altitudinal entre los 1.150 y los 1.840 m. Se destacan los resultados observados en Nariño, donde *P. nasuta* se encontró en la totalidad de las fincas evaluadas con niveles de parasitismo hasta del 50%; y en el municipio de Palestina del departamento de Caldas, donde a pesar de la alta tecnificación y uso de productos químicos, este parasitoide se encontró en seis de las ocho fincas evaluadas, con parasitismos de hasta del 10%. Los resultados obtenidos demostraron el establecimiento de *P. nasuta* en la zona cafetera colombiana, y su contribución en el control natural de poblaciones de broca en el campo.

Phymastichus coffea es un endoparasitoide de adultos de la broca. Fue descubierto en el año de 1987 en Togo, por Borbón (1989). La hembra adulta de este parasitoide paraliza la hembra de la broca en el momento que ésta se encuentra colonizando la cereza de café, después inserta dos huevos en el abdomen, introduciendo su ovipositor entre los élitros. Al emerger las larvas al interior de la broca, una de éstas se dirige hacia la cabeza (macho) y la otra se alimenta en el abdomen (hembra). Ambas larvas empupan dentro del huésped y posteriormente los adultos emergen por la parte posterior del abdomen donde comienzan un nuevo ciclo de vida. Este parasitoide fue inicialmente introducido en el año de 1995, después de someterla a cuarentena en Inglaterra (Baker, 1999). Fue criado en el laboratorio y liberado a partir del año de 1997, posteriormente se registró su establecimiento en el campo con niveles de parasitismo entre el 75% y 85%, a los 90 y 150 días de edad de los frutos (Jaramillo *et al.*, 2005). Sin embargo, no se encontraron individuos de este parasitoide en el campo, ocho años después de su liberación (Cenicafé, 2006).

En los últimos años ha surgido una controversia muy interesante con respecto a la selección del mejor parasitoide. Algunos autores han considerado que *C. stephanoderis* es el parasitoide más eficiente para el control biológico de la broca del café (Lachaud *et al.*, 2002; Batchelor *et al.*, 2006; Vega *et al.*, 1999), con registros de mortalidades de la broca en el campo entre el 35 al 45% en Togo (Borbón 1991) y capacidad de establecimiento en África y países latinoamericanos como Brasil, México, Ecuador, Honduras y Colombia (Benavides *et al.*, 1994; Bustillo *et al.*, 1996; Salazar y Baker 2002). Sin embargo, cinco años después de las primeras liberaciones de parasitoides en Colombia, en el departamento de Nariño, se registró el establecimiento de *C. stephanoderis* en el 27% de los predios donde se había liberado y en el 10% de los predios vecinos, mientras que *P. nasuta* se encontró en el 73% de los sitios muestreados y en el 53% de los lotes vecinos a los sitios de liberación. Estos resultados iniciales mostraron ventajas adaptativas de *P. nasuta* sobre *C. stephanoderis* (Quintero *et al.*, 1998). Los resultados obtenidos posteriormente corroboraron la superioridad de *P. nasuta* en la capacidad de establecimiento en Colombia, el cual se encontró en el 65% de los sitios de muestreo y sin encontrar a *C. stephanoderis* (Cenicafé, 2006). El caso contrario ocurrió en México donde *C. stephanoderis* se estableció en el campo mientras que la permanencia de *P. nasuta* en las mismas condiciones no fue superior a 15 días (Infante *et al.* 2001, 2003; Batchelor *et al.*, 2006).

En general, *C. stephanoderis* se crió masivamente de manera exitosa, fue liberado ocasionando importantes niveles de parasitismo, y su establecimiento fue evaluado y reportado incluso cinco años después de las primeras liberaciones (Bustillo *et al.*, 1996); sin embargo, los niveles de control decrecieron, y al final no se han vuelto a recuperar individuos de esta especie a partir de brocas de campo (Cenicafé, 2006). Es importante considerar que este parasitoide es el más fácil de criar masivamente y que su capacidad depredadora es considerable. *P. nasuta* ha demostrado ser más rústica y tener un comportamiento más agresivo en el campo, abandonando los frutos parasitados para colonizar nuevas cerezas infestadas por broca, pero su multiplicación en confinamiento es más costosa y delicada puesto que es más exigente en requerimientos de cría. Este parasitoide ha sido recuperado en el campo después de 15 años de realizar

las primeras liberaciones, y los porcentajes de parasitismo alcanzan niveles hasta del 50% en condiciones naturales. *P. nasuta* ha sido el único parasitoide adaptado a las condiciones agroecológicas de la caficultura en Colombia.

P. coffea aparece como un buen prospecto dentro de un programa de control biológico por su agresividad cuando está en contacto con el huésped (Jaramillo *et al.*, 2002) y por los altos niveles de parasitismo reportados en el campo (Jaramillo *et al.*, 2005). Sin embargo, la evidencia de superparasitismo (Jaramillo *et al.*, 2006) no puede considerarse como una fortaleza de este parasitoide. El establecimiento de este insecto podría ser beneficiado por la cantidad de huéspedes alternos que este insecto posee (Castillo *et al.*, 2004). *P. coffea* parasitó y completó su ciclo de vida, además de *Hypothenemus hampei*, en *H. crudiae* y *H. eruditus*. Los porcentajes de parasitismo fueron de 64%, 14% y 6%, respectivamente, para cada especie de *Hypothenemus*.

En conclusión, *P. nasuta* debe ser seleccionado como un parasitoide para ser liberado de manera inoculativa en un programa de control biológico clásico, y *P. coffea* podría ser liberado en aquellos momentos donde la cantidad de broca que está emergiendo de frutos infestados del suelo se encuentra atacando las cerezas del árbol. Sin embargo, ambos parasitoides requieren ser criados de manera masiva, a un costo aceptable por los caficultores, para ser involucrados dentro de un programa de manejo integrado de esta plaga, y las estrategias para lograrlo deberán contemplar la producción de brocas huéspedes en dietas artificiales y la posterior multiplicación de sus parasitoides sobre éstas, o la optimización de los procesos actuales de producción de parasitoides sobre café pergamino seco (Benavides y Portilla, 1990).

Cría de parasitoides sobre brocas en dietas artificiales

Se desarrolló una dieta para la producción de todos los estados biológicos de la broca, denominada Cenibroca (Portilla, 1999). La dieta Cenibroca, por su viscosidad, inicialmente no resultó práctica para adaptarse a un sistema automatizado, por lo tanto se buscaron otras alternativas con el objetivo de lograr la producción masiva de la broca del café (Portilla y Streett, 2006). Las técnicas para la cría de la broca y de sus parasitoides, desarrolladas en los laboratorios de Cría Masiva de Insectos de la USDA, ARS, Mississippi, permitieron producciones de estos insectos en gran escala, mediante el uso de equipos industriales elaborados para el procesamiento de dietas artificiales (Portilla y Street, 2006). Esta dieta estuvo compuesta por café, agar, caseína, levadura, inhibidores, vitaminas y preservativos; además, se desarrolló un nuevo diseño de celdas y dispensadores de dieta durante el proceso de automatización y se logró establecer una colonia de broca por 70 generaciones continuas sin afectar su actividad, fecundidad, peso y tamaño. En total se pueden producir 900 mil brocas, utilizando 20 litros de dieta (Portilla y Street, 2006).

En general, los estudios de cría de parasitoides sobre brocas producidas en dieta artificial, se han concentrado en *C. stephanoderis* y *P. coffea*. A pesar de que se han realizado estudios con *P. nasuta*, éstos deben considerarse como preliminares.

La dieta Cenibroca se preparó inicialmente en bandejas plásticas con 750 cc de dieta. Éstas permitieron producir alrededor de medio millón de brocas a los 30 días, con una supervivencia de la broca del 83% y una infestación del 63% (Cenicafé, 1997). Las brocas se cosecharon entre los 20 y los 30 días después de infestar las dietas, dado que en este tiempo se encontró el mayor número de estados de la broca preferidos por *C. stephanoderis*. Para la obtención de los estados de broca para reproducir el parasitoide, se utilizó una zaranda y se distribuyeron en un recipiente plástico, donde se liberó un parasitoide por cada 20 estados de broca. Con esta metodología se logró una supervivencia del 85% de los parasitoides, los cuales causaron niveles de parasitismo del 85%, depredación del 58% de los estados adultos e inmaduros de la broca y una parasitación de 16 estados biológicos de broca por cada avispa. En el campo estas avispas se comportaron igual que aquellas criadas sobre café pergamino seco (Benavides y Portilla, 1990).

Cría de *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*

Se realizaron experimentos sobre la biología y los parámetros demográficos tanto de *P. nasuta* como de *C. stephanoderis* criada sobre broca producida en dietas artificiales². Se observaron diferencias en el comportamiento de oviposición de estos dos parasitoides, donde *C. stephanoderis* ovipositó en la parte dorsal media y ventral anterior del abdomen de las prepupas y larvas de segundo ínstar, y en la parte dorsal cerca al élitro en las pupas. Este parasitoide seleccionó su huésped y parasitó únicamente aquellos que le garantizaron la supervivencia de su progenie; además, distinguieron muy bien los estados parasitados. *P. nasuta*, por el contrario, ovipositó en cualquier parte del cuerpo de su huésped, sobre los mismos estados utilizados por *C. stephanoderis* y sin realizar ninguna selección; igualmente no sujetó los huevos a su huésped, contrario al comportamiento de *C. stephanoderis*.

Los hallazgos con respecto a la biología de *P. nasuta* sugieren que este parasitoide posee un comportamiento más rústico y le da mayores posibilidades de establecerse en el campo (Cenicafé, 2006); sin embargo, no permite deducir si su cría en confinamiento podría ser mejorada. Las observaciones preliminares mostraron que *C. stephanoderis* prefiere prepupas, seguida de pupas y únicamente una pequeña población de larvas de segundo ínstar, mientras que *P. nasuta* mostró preferencia por prepupas seguida de larvas de segundo ínstar y un porcentaje muy bajo de pupas¹. Dado que los estados de broca preferidos por *P. nasuta* tienen una duración menor que las pupas, explica en alguna forma la menor capacidad de *P. nasuta* de ser producida en confinamiento, comparada con el éxito de producir *C. stephanoderis*. Se debe asumir entonces que la producción de *P. nasuta* sobre broca de dieta artificial podría incrementar el costo final de cada parasitoide obtenido, excepto que se considere en detalle este comportamiento para optimizar el proceso de cría.

Cría de *Phymastichus coffea*

Las cantidades de broca producidas en dieta artificial han permitido desarrollar técnicas de producción masiva del parasitoide *P. coffea* (Cenicafé, 2004). Para esto fue necesario desarrollar una nueva dieta llamada MP. Para el proceso de parasitación se utilizaron 25 g de dieta MP, 10.000 hembras activas de broca, provenientes de la dieta Cenibroca, 1.000 hembras y 200 machos del parasitoide por recipiente. En la cosecha se obtuvieron momias de brocas parasitadas, mediante el uso de cernidores y agitadores mecánicos. Se pueden recolectar un millón de hembras de broca parasitadas en aproximadamente 45 minutos.

Costo de la broca producida en dieta artificial

La cría de *C. stephanoderis* sobre brocas criadas en dietas artificiales fue evaluada en el año de 1996 (Cenicafé, 1997). Se realizó un análisis económico preliminar y se encontró que con un litro de la dieta se podían producir alrededor de 58.000 estados de broca, de los cuales el 58% fueron aptos para ser parasitados por la avispa (aproximadamente 33.000 larvas de segundo ínstar, prepupas y pupas). Estos estados de la broca se parasitaron con 1.700 avispas y se obtuvieron 26.000 individuos (machos y hembras). Con un costo aproximado de US\$ 2,00 por litro de dieta, se podría estimar que el costo de cada avispa fue de 16 centavos de peso, moneda Colombiana. Este costo no incluyó el valor de la infraestructura, materiales y mano de obra.

El costo para producir *P. coffea* sobre brocas criadas en dieta artificial fue estimado por Adrian Leach, en el año 2001³. En este estudio se realizaron varios supuestos, por lo tanto los resultados deben analizarse cuidadosamente. Se concluye finalmente que el costo de producir un parasitoide, sobre la base de una

² PORTILLA, M. 2001. Informe anual de labores octubre de 2001 – septiembre 2002. Disciplina de Entomología. Cenicafé. Documento interno. Cenicafé, Chinchiná, Colombia.

³ LEACH A. 2001. A cost model for mass rearing of *Phymastichus coffea* for area-wide control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Central and South America – processes and user's guide. Documento interno Disciplina Entomología.

Tabla 7.1. Posibles insectos plaga en el cultivo del café y parasitoides enemigos naturales en Colombia (Cárdenas y Posada, 2001).

INSECTO PLAGA	PARASITOIDE
Áfidos, <i>Myzus persicae</i> Sulzer y <i>Aphis gossypii</i> Glover (Hemiptera: Aphididae)	<i>Lysiphlebus testaceipes</i> (Cresson) (Hym: Braconidae)
Mosca blanca lanuda, <i>Aleurothrixus floccosus</i> (Maskell) (Hem: Aleyrodidae)	<i>Coccidencyrtus</i> sp. (Hym: Encyrtidae)
Gusanos medidores, <i>Oxydia</i> spp. (Lep: Geometridae).	<i>Apanteles</i> sp. (Hym: Braconidae) y <i>Casinaria</i> sp. (Hym: Ichneumonidae)
Gusano cuatro ventanas o rayado de los cítricos, <i>Rothschildia pos. orizaba</i> Westwood (Lep: Saturniidae)	<i>Anastatus</i> sp. (Hym: Eulophidae), <i>Trichogramma</i> sp. (Hym: Scelionidae), <i>Belsovia</i> sp. (Dip: Tachinidae), <i>Conura mendozaensis</i> Cameron (Hym: Chalcididae)
Gusano monturita, <i>Sibine fusca</i> Stoll, <i>S. apicalis</i> Dyar, <i>Sibine</i> spp. (Lep: Limacodidae)	<i>Apanteles</i> sp. (Hym: Braconidae), <i>Casinaria</i> sp., <i>Theronia</i> sp., <i>Barycerus dubiosus</i> (Say) (Hym: Ichneumonidae), <i>Cerastomica</i> sp., <i>Spilochalcis</i> sp. (Hym: Chalcididae)
Gusano pollo, <i>Megalopyge lanata</i> Stoll (Lep: Megalopygidae)	<i>Carcelaria</i> sp. (Dip: Tachinidae)
Falsos medidores, <i>Trichoplusia ni</i> (Hubner) y <i>Pseudoplusia includens</i> (Walker) (Lep: Noctuidae-Plutellinae)	<i>Copidosoma truncatellum</i> (Dalman) (Hym: Encyrtidae)
Minador de las hojas del cafeto, <i>Leucoptera coffeellum</i> (Guérin-Ménéville) (Lep: Lyonetiidae)	<i>Closterocerus coffeellae</i> Ihring, <i>Horismenus cupreus</i> Ashmead, <i>Pnigalio sarasolai</i> , <i>Zagrammosoma</i> sp., <i>Elachertus</i> sp., <i>Aprostocetus</i> sp., <i>Z. sebralineatum</i> De Santis (Hym: Eulophidae)
Moscas de las frutas, <i>Anastrepha fraterculus</i> (Wiedmann), <i>Ceratitis capitata</i> (Wiedmann) (Dip: Tephritidae)	<i>Odontosema</i> sp. (Hym: Cynipidae), <i>Doryctobracon crawfordi</i> (Viereck), <i>Opius anastrophae</i> Viereck, <i>Microcrasis</i> sp., (Hym: Braconidae)

cría continuada por 10 años, fue de 42 centavos de peso. En este costo se encuentran considerados la infraestructura, mano de obra, materiales y transporte de los parasitoides desde la biofábrica hasta la finca.

No se han realizado estudios tendientes a producir el parasitoide *P. nasuta* sobre brocas criadas en dieta artificial. Este es el parasitoide más exitosamente establecido en Colombia. Se podría tomar como base el costo de producción de *C. stephanoderis*, sin embargo, por su preferencia a ovipositar en prepupas y larvas de segundo ínstar, su costo podría incrementar la cosecha de los estados huésped óptimos para su cría.

Consideraciones finales

Los resultados de campo obtenidos a partir de las últimas investigaciones llevadas a cabo en Cenicafé, indican que de todos los parasitoides usados para el control de la broca, *P. nasuta* posee el mayor potencial de control. Este enemigo de la broca ha sobrevivido por más de siete años después de las últimas liberaciones en los cafetales y se encuentra presente en todas las regiones donde se ha muestreado. Ha logrado dispersarse a otras áreas con parasitismos hasta de 50% en regiones sin aplicaciones generalizadas de insecticidas químicos y 10% en fincas empresariales. Además, ha sido el único parasitoide que se ha adaptado a la caficultura colombiana, por lo tanto, cualquier iniciativa futura para producir parasitoides debe estar enfocada inicialmente a esta especie.

Se han realizado avances significativos en cuanto a la cría de broca en dietas artificiales, con el desarrollo de la dieta Cenibroca, en la cual se han mantenido colonias de broca por más de 70 generaciones, sin detrimento de sus parámetros demográficos y sin necesidad de renovar el pie de cría con material proveniente del campo. La broca producida en esta dieta puede ser manipulada para usarla en la producción masiva de parasitoides, de acuerdo a las exigencias de cada uno de ellos. Se han criado los parasitoides *C. stephanoderis* y *P. coffea* sobre brocas producidas en la dieta artificial Cenibroca, y los costos se han estimado entre 20 y 40 centavos de peso moneda colombiana por individuo; sin embargo, no se han considerado los materiales, los equipos y la mano de obra, por lo que estos valores deben recalcularse cuidadosamente. *P. nasuta* se ha criado en estas mismas condiciones, pero los resultados son preliminares y los costos no han sido estimados. Es importante considerar que estos análisis están basados en procesos pequeños no comerciales, y que las exigencias de huéspedes adecuados (larvas y prepupas de broca) de *P. nasuta* quizás aumenten los costos de producción.

Actualmente existen avances y antecedentes suficientes para continuar investigaciones con el objetivo de establecer una metodología de producción de *P. nasuta* sobre brocas criadas en la dieta Cenibroca, determinar la posibilidad de escalar esta producción a nivel comercial y calcular los costos. Es importante considerar que la cría de insectos en dietas artificiales requieren de una asepsia extrema, que se traduce en instalaciones bien elaboradas, que incrementan los costos en relación con el sistema tradicional usado actualmente.

Es aconsejable continuar con los estudios tendientes a producir masivamente *P. coffea* sobre dietas artificiales, este parasitoide podría ser producido y liberado de manera masiva durante los meses de mayor vuelo de la broca en el campo.

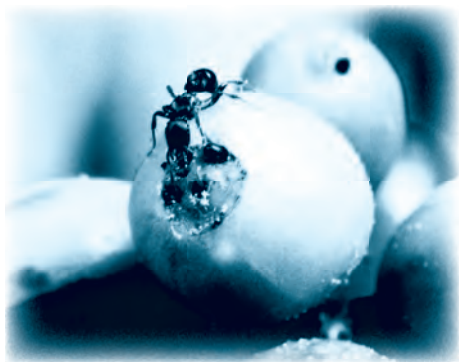
Literatura citada

- ALDANA DE LA T., J. A. 1999. Cría de *Spalangia* sp. (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitoide de pupas de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). Bogotá, Colombia, Cenipalma, p. 1-3.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; BUSTILLO, A. E.; BAKER, P. S.; OROZCO, J.; CHAVES, B. 1998. Efecto depredador del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* sobre los estados inmaduros de *Hypothenemus hampei* en condiciones de campo. Revista Colombiana de Entomología (Colombia) 24 (1-2): 35-41. 1998.
- ASKEW, R. R. 1971. Parasitic insects. American Elsevier Pub. Co., New York, 316 p.
- BARRERA, J. F. 1992. Dynamique des populations du scolyte des fruits du cafeier *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) et lutte biologique avec le parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* au Chiapas Mexique. Toulouse (Francia); Universite Paul Sabatier, 1992. 301 p.
- BAKER, P. S. 1999. The coffee berry borer in Colombia; final report of the DFID – Cenicafe – CABI Bioscience IPM for coffee project (CNTR 93/1536A). Chinchiná (Colombia), DFID – Cenicafe, 154 p.
- BATCHELOR, T. P.; HARDY, I. C. W.; BARRERA, J. F. 2006. Interactions among bethylid parasitoid species attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Biological Control, 36: 106 - 118.
- BENAVIDES G., M.; PORTILLA, M. 1990. Uso del café pergamino para la cría de la broca del café, *Hypothenemus hampei* y de su parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* Betrem en Colombia. Revista Cenicafe (Colombia), 41 (4):114 - 116.
- BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. 1994. Avances sobre el uso del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hym.: Bethyridae) para el control de broca del café, *Hypothenemus hampei*. Revista Colombiana de Entomología, 20 (4): 247 - 253.
- BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E.; PORTILLA, M.; OROZCO, J. 2002. Classical biological control of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in Colombia with african parasitoids. In: International Symposium on Biological Control of Arthropods, 1. Honolulu, Hawaii, January 14-18, 2002. Washington, USDA. p. 430 - 434.

- BORBÓN M., O. 1989. Bioecologie d'un ravageur des baies de cafeier, *Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera; Scolytidae) et de ses parasitoides au Togo. Toulouse (Francia), Université Paul Sabatier de Toulouse, 185 p.
- BORBÓN, O. 1991. La broca del fruto del cafeto: Programa cooperativo ICAFE-MAG. San José, Costa Rica, 50 p.
- BURBUTIS, P. P.; ERWIN, N.; ERTLE, L. R. 1981. Reintroduction and establishment of *Lydella thompsoni* and notes on other parasites of the European corn borer in Delaware. *Environmental Entomology*, 10: 779 - 781.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D. A.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA, F. J. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Cenicafé, Editorial Feriva S. A., Cali, Colombia, 134 p.
- BUSTILLO, A. E.; DROOZ, A. T. 1977. Cooperative establishment of a Virginia (USA) strain of *Telenomus alsophilae* on *Oxydia trychiata* in Colombia. *Journal of Economic Entomology*, 70 (6):767-70.
- BUSTILLO, A. E.; OROZCO, J.; BENAVIDES, P.; PORTILLA, M. 1996. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café en Colombia. *Revista Cenicafé (Colombia)*, 47: 215-230.
- CÁRDENAS, R.; POSADA, F. J. 2001. Los insectos y otros habitantes de cafetales y platanales. Armenia (Colombia), Comité Departamental de Cafeteros del Quindío-Cenicafé, 250 p.
- CASTILLO, A.; ESPINOZA, J. C.; VALLE, J.; INFANTE, F. 2006. Dispersión del parasitoide africano *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) en un nuevo agroecosistema. *Folia Entomologica Mexicana*, 45 (3): 319-327.
- CASTILLO, A.; INFANTE, F.; LÓPEZ, G.; TRUJILLO, J.; KIRKENDALL, L.; VEGA, F. 2004. Laboratory parasitism by *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) upon non-target bark beetles associated with coffee plantations. *Florida Entomologist*, 87 (3): 274-277.
- CENICAFÉ. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. 1997. Informe anual de actividades Cenicafé. Editorial Feriva S. A. Chinchiná – Colombia, p. 55-56.
- CENICAFÉ. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. 2004. Informe anual de actividades Cenicafé. Editorial Feriva S. A. Cali, Colombia, p. 162-163.
- CENICAFÉ. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. 2006. Informe anual de actividades Cenicafé. Editorial Feriva S.A. Chinchiná – Colombia, p. 121-122.
- CIBC. COMMONWEALTH INSTITUTE OF BIOLOGICAL CONTROL. 1990. Manual de capacitación en control biológico. Curso de Control Biológico, Abril – Mayo 1990, Chinchiná (Colombia), Cenicafé, 174 p.
- DROOZ, A. T.; BUSTILLO, A. E.; FEDDE, G. F.; FEDDE, V. H. 1977. North American egg parasite successfully controls a different host genus in South America. *Science* Vol. 197. July 22, 1977, p. 390-391.
- EMBREE, D. G. 1971. The biological control of the winter moth in eastern Canada by introduced parasites. In: Huffaker C.B. (ed.). *Biological Control*, Plenum press, New York, p. 217 - 226.
- GÓMEZ, L. A.; LASTRA, L. A. 1995. Insectos asociados con la caña de azúcar en Colombia. In: El cultivo de la caña en la zona Azucarera de Colombia. Cassalet, C.; Torres J.; Echeverri.; C. (eds.), Centro de Investigaciones de la caña de azúcar, Cali, Colombia. p. 237-263.
- HEMPEL, A. A 1934. *Prorops nasuta* Waterston no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico (Brasil)*, 5: 197-212.
- ICA. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 1999. Protección sanitaria del cultivo del cafeto convenio ICA-FNC. Informe 1998. ICA, Bogotá, Colombia. 48 p.
- INCISO, E., CASTRO, J. 2007. Evaluación de *Spalangia endius* y *Muscidifurax* sp. (Hymenoptera, Pteromalidae) como controladores de *Musca domestica* en el Perú. *Revista. Peruana. Biol.*, 13 (3): 237 – 241.
- INFANTE, F. 1998. Biological control of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in México, using the parasitoid *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyilidae). Ascot, Imperial College. Department of Biology, 173 p.

- INFANTE, F.; MUMFORD, J.; MÉNDEZ, I. 2001. Non-recovery of *Prorops nasuta* (Hymenoptera : Bethylidae), an imported parasitoid of the coffee berry borer (Coleoptera:Scolytidae) in Mexico. *Southwestern Entomologist*, 26: 159–163.
- INFANTE, F.; MUMFORD, J.; GARCÍA-BALLINAS, A. 2003. Predation by native arthropods on the African parasitoid *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethylidae) in coffee plantations of Mexico. *Florida Entomologist*, 86: 86–88.
- INFANTE, F.; MURPHY, S. T.; BARRERA, J. F.; GÓMEZ, R. J.; DE LA ROSA, R., W.; DAMON, A. 1994. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoide de la broca del café, y algunas notas sobre su historia de vida. *Southwestern Entomologist*, 19 (3): 313-315.
- JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; SETAMOU, M. 2006. Field superparasitism by *Phymastichus coffea*, a parasitoid of adult coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119: 231-237.
- JARAMILLO, J.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. 2002. Parasitismo de *Phymastichus coffea* sobre poblaciones de *Hypothenemus hampei* en frutos de café de diferentes edades. *Revista Cenicafe* (Colombia), 53 (4): 317-326.
- JARAMILLO, J.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C.; BORGEMEISTER, C. 2005. Biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) in Colombia. *Bulletin of Entomological Research*, 95: 467 - 472.
- JIMÉNEZ, J. 2001. Cría, manejo y comercialización del parasitoide de moscas comunes, *Spalangia cameroni* Perkins. In: XXVIII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, Pereira, Colombia, Agosto 8-10, 2001. p. 82-86
- KLEIN, D. C.; ESPINOZA, O.; TANDAZO, A; CISNEROS, P; DELGADO, D. 1988. Factores naturales de regulación y control biológico de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferr. *Sanidad Vegetal* (Ecuador), 3 (3): 5-30.
- LACHAUD, G. P.; HARDY, I. C. W.; LACHAUD, J. P. 2002. Insect gladiators: Competitive interactions between three species of bethylid wasps attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Biological Control*, 25: 231 - 238.
- MOORE, D.; PRIOR, C. 1988. Present status of biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. In: Brighton Crop Protection Conference Vol. 3. British Crop Protection Council, Thornton Heath, Surrey, UK, p. 1119–1124.
- PORTILLA, M. 1999. Desarrollo y evaluación de una dieta artificial para la cría de *Hypothenemus hampei*. *Cenicafe* (Colombia), 50 (1):24-38. 1999.
- PORTILLA, M.; STREETT, D. A. 2006. Nuevas técnicas de producción masiva automatizada de *Hypothenemus hampei* sobre la dieta artificial Cenibroca modificada. *Revista Cenicafe* (Colombia) 57 (1): 37-50.
- QUINTERO, C.; BUSTILLO, A. E.; BENAVIDES, P; CHAVES, B. 1998. Evidencias del establecimiento de *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethylidae) en cafetales del departamento de Nariño, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 24 (3-4): 141-147.
- ROMOSSER, W. S., STOFFOLANO, J. G. 1998. The science of entomology. Boston. McGraw-Hill, 238 p.
- SALAZAR, H. M.; BAKER, P. S. 2002. Impacto de liberaciones *Cephalonomia stephanoderis* sobre poblaciones *Hypothenemus hampei*. *Revista Cenicafe* (Colombia), 53: 306 - 316.
- SALAZAR, H. M.; MEJÍA, C. G.; ARISTIZÁBAL, L. F.; JIMÉNEZ, M.; CANTOR, F. 2007. Introducción de *Phymastichus coffea*, parasitoide de la broca, en fincas de caficultores experimentadores. *Cenicafe Avances Técnicos* No. 358, Chinchiná, Colombia, 8 p.
- TICHELER, J. H. G. 1963. Estudio analítico de la epidemiología del escolítido de los granos de café *Stephanoderes hampei* Ferr., en Costa de Marfil. *Revista Cenicafe* (Colombia), 14 (4): 223 - 294.
- VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOW, T. S. 1996. Biological control. Chapman and Hall. New York, 539 p.

- VEGA, F. E.; MERCADIER, G.; DAMON, A.; KIRK, A. 1999. Natural enemies of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in Togo and Cote d'Ivoire, and other insects associated with coffee beans. *African Entomology*, 7 (2): 243-248.
- VIÑUELA, E.; URBANEJA, A.; JACAS, J. 2006. Historia y futuro del control biológico en España, ¿hacia dónde vamos? *In*: Memorias XXXIII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, julio 26-28, 2006. Manizales, Colombia, p. 50 - 60.



CAPÍTULO 8

Depredadores en el control biológico

Pablo Benavides Machado; Leyre Yissel Vera Montoya; Zulma Nancy Gil Palacios

Definiciones

Los insectos depredadores son aquellos que capturan y se alimentan de animales vivos, usualmente otros insectos (Romosser y Stoffolano, 1998). Los depredadores son generalmente más grandes que sus presas, y las pueden consumir en cualquier estado de su ciclo de vida. El comportamiento depredador es común en los insectos, hábito que se puede observar en grupos de insectos muy divergentes (Romosser y Stoffolano, 1998). Algunos depredadores utilizan sus mandíbulas para morder y masticar, mientras que otros pican y succionan la hemolinfa de sus presas (Debach y Rosen, 1991). Los depredadores son menos específicos que otros agentes de control naturales como parasitoides o entomopatógenos (CIBC 1990); razón por la cual pueden llegar a ser menos efectivos en disminuir las poblaciones del insecto a controlar. Sin embargo, dependiendo de la abundancia de otras presas, se podrían mantener poblaciones de depredadores lo suficientemente altas como para que disminuyan la plaga, en momentos que ésta sobrepase los umbrales de daño económico (CIBC, 1990).

Algunas características que identifican los insectos depredadores son su velocidad y agilidad para capturar sus presas (Romosser y Stoffolano, 1998), igualmente poseen mandíbulas fuertes y morfotipos depredadores característicos. Muchas especies son depredadoras tanto en su estado de larva como de adulto, sin que necesariamente ataquen la misma presa; otras en cambio depredan en el estado de larva y se alimentan de néctar cuando llegan a adultos; mientras que otros insectos depredadores cazan activamente las presas que alimentarán su prole (Debach y Rosen, 1991). Los órdenes que tienen mayor cantidad de especies de depredadores son Odonata, Hemiptera, Neuroptera, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera; sin embargo, otros órdenes contribuyen con algunas especies como agentes naturales en el control biológico de plagas de interés económico (Romosser y Stoffolano, 1998).

Órdenes y familias de depredadores

Coleoptera

Los escarabajos tienen familias con un gran número de insectos depredadores, probablemente más de la mitad de los insectos depredadores están en este orden (Debach y Rosen, 1991). Las familias más representativas son: Coccinellidae, Silphidae, Staphylinidae, Histeridae, Lampyridae, Cleridae, Cantharidae, Meloidae, Cicindelidae, Carabidae, Dysticidae, Hydrophilidae y Girinidae (Debach y Rosen, 1991).

Las especies de la familia Coccinellidae son importantes en el control biológico de plagas introducidas y nativas (Van Driesche y Bellows, 1996). El primer ejemplo exitoso de control biológico clásico se obtuvo con la introducción del coccinélido *Rodolia cardinalis* Muls., desde Australia, para el control de la escama algodonosa de los cítricos, *Icerya purchasi* Maskell, en el estado de California en el año de 1889 (Debach y Rosen, 1991). Otros ejemplos más recientes incluyen a *Cryptognatha nodiceps* Marshall para el control de *Aspidiotus destructor*, en Trinidad, y *Chilocorus distigma* Klug y *C. nigritus* para el control de escamas en

coco (Van Driesche y Bellows, 1996). En Colombia, se han registrado las especies *Pentilia castanea* Mulsant y *Oeneis* sp., controlando poblaciones de escama articulada en café, *Selenaspidus articulatus* (Morgan) (Hymenoptera: Diaspididae), y las especies *Azya* sp., *Scymnus* sp., *Cycloneda* sp. e *Hippodamia* sp., atacando el áfido del algodón, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) (Cárdenas y Posada, 2001).

Otros insectos depredadores de importancia se encuentran en la familia Staphylinidae, en la cual algunas especies depredan larvas de moscas, que se alimentan de materia orgánica en descomposición; en la familia Histeridae existen depredadores de la mosca casera, *Musca domestica*; la familia Cantharidae posee especies en las cuales los adultos se alimentan de áfidos y huevos de langostas; y las familias Cleridae y Sybocephalidae tienen especies depredadoras de otros insectos (Van Driesche y Bellows, 1996). Así mismo, es importante hacer referencia a algunas especies de coleópteros acuáticos que se alimentan de larvas de mosquitos, éstas se encuentran en las familias Hydrophilidae, Gyrinidae y Dystiscidae (Van Driesche y Bellows, 1996, Debach y Rosen, 1991).

Hemiptera

Aunque este orden contiene especies que son predominantemente fitófagas, algunas se han especializado en alimentarse de artrópodos. Se han registrado las especies *Orius tristicolor* (White) y *Anthocoris gallarumulmi* (De Geer), de la familia Anthocoridae, como depredadores importantes de trips y áfidos plagas de cultivos bajo invernadero (Van Driesche y Bellows, 1996). Igualmente, se han identificado dos depredadores de Anthocoridae: *Buchananiella contigua* (Buchanan-White) en Mosquera (Cundinamarca), y *Lyctocoris campestris* (F.), en Boyacá, en el cultivo de la papa, depredando *Tecia solanivora* (Povolny) (Osorio et al., 2001).

La familia Miridae, a pesar de contener especies herbívoras de gran impacto económico en algunos cultivos, también posee individuos controladores naturales. El mirido *Macrolophus caliginosus* Wagner es usado para el control de moscas blancas en cultivos de tomate, tanto en invernadero como en el campo (Van Driesche y Bellows, 1996). Igualmente *Orius insidiosus* es una especie de esta familia, muy conocida por depredar trips y plagas de los órdenes Hemiptera y Lepidoptera (Debach y Rosen, 1991).

En la familia Lygaeidae, se ha reportado a *Geocoris* spp. que es un depredador importante de plagas del algodón (Van Driesche y Bellows, 1996). Igualmente las especies *Podisus maculiventris* (Say) y *Perillus bioculatus* (F.) de la familia Pentatomidae son depredadores importantes de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), plaga importante en el cultivo de la papa en Europa.

Otras familias de importancia como depredadores en este orden incluyen miembros de Reduviidae y Phymatidae, e insectos acuáticos de las familias Notonectidae, Pleidae, Naucoridae, Belostomatidae, Nepidae, Gerridae y Veliidae (Van Driesche y Bellows, 1996; Debach y Rosen, 1991).

Neuroptera

A este orden pertenecen insectos de las familias Chrysopidae y Hemerobiidae (CIBC, 1990; Debach y Rosen, 1991; Van Driesche y Bellows, 1996). Dentro de la familia Chrysopidae sobresalen los géneros *Chrysopa* y *Chrysoperla*, cuyos estados de larva y adulto son depredadores, se alimentan principalmente de áfidos, moscas blancas y huevos de varios insectos (Van Driesche y Bellows, 1996). Especies de la familia Hemerobiidae consumen áfidos, moscas blancas y escamas (Debach y Rosen, 1991).

Diptera

Las familias más significativas que contienen especies depredadoras dentro del orden Diptera son Cecidomyiidae, Syrphidae y Chamaemyiidae. Especies de la familia Cecidomyiidae son depredadoras de áfidos, escamas, moscas blancas y trips. La especie más conocida en esta familia es *Aphidoletes aphimidyza* (Rondani), la cual se cría y produce masivamente para el control de áfidos en invernadero. Los adultos de la familia Syrphidae son generalmente depredadores de áfidos, su color y forma son similares a los de las

abejas y avispas de la familia Vespidae. Algunas especies de la familia Chamaemyiidae se han usado como agentes de control para plagas invasoras (Van Driesche y Bellows, 1996).

Odonata

Las libélulas son miembros de este orden, se alimentan de manera voraz tanto en su estado larval como adulto. Prefieren alimentarse de los estados acuáticos de mosquitos, lepidópteros e himenópteros, aunque se han registrado además como depredadores de termitas (Debach y Rosen, 1991).

Hymenoptera

Las familias más importantes dentro de este orden por poseer especies depredadoras son Formicidae, Vespidae y Sphecidae. Formicidae posee muchas especies de hormigas que generalmente atacan plagas en cultivos perennes y árboles. Sin embargo, estos individuos no deben ser introducidos dentro de áreas diferentes a su área nativa, por ser especies altamente invasivas y generalistas que pueden afectar negativamente el hábitat. Avispas de la familia Vespidae, de hábitos sociales, han sido exitosas en el control de larvas de lepidópteros, como es el caso del gusano cachón de la yuca, *Erynnis ello* L. (Lepidoptera: Sphingidae). Avispas de la familia Sphecidae son generalmente depredadores de un gran número de artrópodos (Van Driesche y Bellows, 1996). En Colombia, *Polistes* sp., es un depredador eficiente del minador de la hoja del café, *Leucoptera coffeellum*.

Orthoptera

Este orden incluye a la especie *Mantis religiosa* L. de la familia Mantidae, y aunque se reconoce como un depredador voraz, no existen estudios para su cría masiva y liberación en el campo, dentro de un programa de control biológico (Van Driesche y Bellows, 1996). Con frecuencia se observa en los ecosistemas cafeteros colombianos.

Dermaptera

Este orden contiene los insectos conocidos como tijeretas, de los cuales algunas especies son depredadoras de áfidos en frutales (Van Driesche y Bellows, 1996).

Thysanoptera

A pesar de que la mayoría de insectos trips son plagas en plantas, dos familias son de importancia como agentes naturales de control: Aleoarthripidae y Phlaeothripidae, este último importante en el control de mosca blanca (Van Driesche y Bellows 1996).

Depredadores nativos de la broca del café

Cárdenas y Posada (2001) mencionan como depredadores nativos de la broca del café en Colombia, a *Calliodes* sp. y *Scolopscelis* sp. (Hemiptera: Anthocoridae) y hormigas de los géneros *Crematogaster*, *Solenopsis*, *Wasmannia* y *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae). Bustillo et al. (2002) registraron tres familias importantes: Formicidae, Anthocoridae y Cucujidae, depredando la broca del café. En la familia Formicidae se encontraron los géneros *Solenopsis*, *Pheidole*, *Wasmannia*, *Paratrechina*, *Crematogaster*, *Brachymyrmex* y *Prenolepis*. *Crematogaster curvispinosus* se ha encontrado en Brasil alimentándose de la broca (Benassi, 1995). De la familia Anthocoridae hay una especie no identificada y dos géneros, *Calliodes* y *Scolopscelis*. La especie *Cathartus quadricollis* (Guérin-Méneville) de la familia Cucujidae, se observó en cerezas de café infestadas y se cree que puede actuar como depredador de estados inmaduros de la broca; sin embargo, no se observó depredación en evaluaciones en el laboratorio.

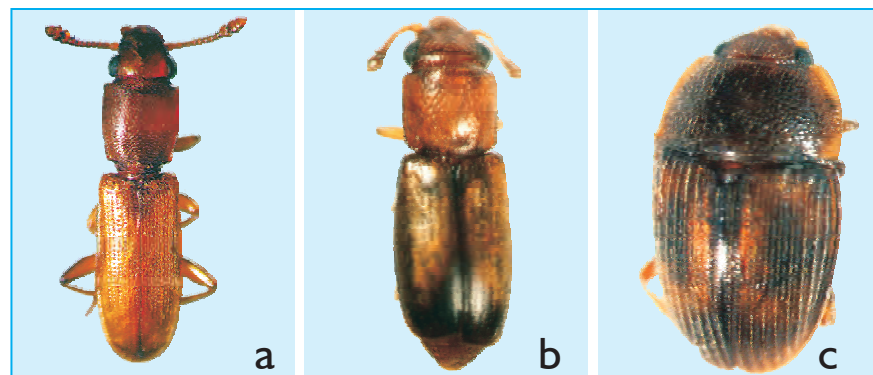
En estudios posteriores a éste, desarrollados entre el año 2006 y 2007, después de 18 años de presencia de la broca del café, se llevó a cabo un muestreo en la zona central cafetera, con el fin de identificar depredadores de esta plaga. Se visitaron 24 fincas y se disecaron alrededor de 16.800 frutos infestados, tanto del árbol como del suelo. De estos frutos infestados aproximadamente el 5% tenían algún posible enemigo natural. Se encontró que el 91% estaba ocupado por dos especies de hormigas, *Wasmannia* sp. y *Crematogaster* sp. (Formicidae), y por *Monanus* sp. (Cucujidae), el 9% restante contenían otros depredadores de los órdenes Hemiptera, Dermaptera, Hymenoptera y Coleoptera.

Se encontraron tres especies de Coleoptera depredando estados inmaduros de la broca del café en el laboratorio (Figura 8.1). Dos de ellas de la familia Cucujidae: *Cathartus quadricollis* y *Monanus* sp. Esta última especie se encontró en el 95% de los sitios muestreados. Ambos cucujidos presentaron preferencia por los huevos y las larvas, con niveles de depredación mayores al 60%, las pupas también fueron depredadas pero en menor cantidad. Los Cucujidae se caracterizan por ser depredadores de ácaros e insectos pequeños, y por ubicarse frecuentemente en lugares escondidos (Triplehorn y Johnson, 2005). *C. quadricollis* ya había sido registrado anteriormente como posible depredador de la broca (Bustillo et al., 2002), pero sin resultados positivos en el laboratorio.

Una tercera especie dentro del orden Coleoptera correspondió a *Prometopia* sp., de la familia Nitidulidae. Esta presentó en el laboratorio un promedio de depredación de huevos de la broca del 45% y de pupas del 13%. Los nitidúlidos se alimentan principalmente de frutos o material en descomposición, y algunas especies como *Carpophilus* sp., son plagas menores en maíz dulce (Borror et al., 1992); probablemente, la depredación de estados inmaduros de la broca por *Prometopia* sp., estuvo influenciada por la proximidad con la presa, debido al confinamiento en el laboratorio, lo cual puede evidenciar comportamientos no esperados en los insectos (Madrigal, 2001).

De la familia Anthicidae se encontraron en el laboratorio tres individuos depredando diferentes estados de la broca, especialmente pupas. Dos de ellos fueron identificados como *Xylocoris* sp. (Figura 8.2). Este género se registra como depredador generalista de plagas de granos almacenados (Madrigal, 2001), como es el caso de *Xylocoris flavipes* Reuter, enemigo de *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Cucujidae). Bustillo et al. (2002) registraron para Colombia tres especies de la familia Anthicidae (*Calliodes* sp., *Scoloposcelis* sp. y uno no determinado), como depredadores de la broca; en esta investigación se encontró la especie *Xylocoris* sp., la cual se constituye en un nuevo registro de un controlador natural de la broca.

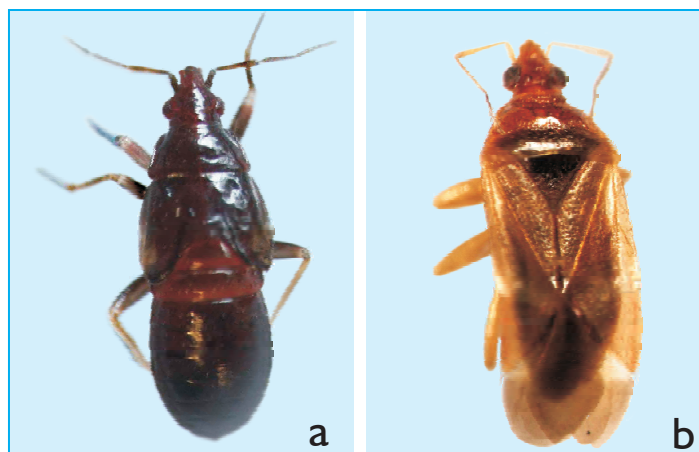
En la familia Formicidae, se encontraron hormigas depredadoras de los géneros *Wasmannia*, *Crematogaster*, *Solenopsis* y *Brachymyrmex* (Figura 8.3), los cuales ya habían sido registrados como depredadores de todos los estados de la broca¹ (Bustillo et al., 2002). *Crematogaster* sp., ya había sido encontrada depredando *H.*



■ **Figura 8.1.** Especies del orden Coleoptera depredadores de estados inmaduros de *H. hampei*. **a.** *Cathartus quadricollis*; **b.** *Monanus* sp.; **c.** *Prometopia* sp.

hampei en Brasil y Colombia (Bustillo *et al.*, 2002; CIBC, 1990), y es dentro de este grupo de hormigas, la que se presenta con mayor potencial para ser involucrada en un programa de manejo integrado, por no ser una especie tan invasiva ni causar molestias a mamíferos ni humanos.

Se encontró un individuo del orden Dermaptera proveniente de frutos del suelo, el cual atacó y depredó una pupa en una unidad de observación (Figura 8.4).



■ ■ **Figura 8.2.** *Xylocoris* sp. (Hemiptera: Anthocoridae) depredador de estados inmaduros de *H. hampei*. a. Ninfa; b. Adulto.



■ ■ **Figura 8.3.** Depredadores de todos los estados de *H. hampei* del orden Hymenoptera: Formicidae. a. *Wasmannia* sp.; b. *Crematogaster* sp.; c. *Solenopsis* sp.; d. *Brachymyrmex* sp.



■ ■ **Figura 8.4.** Insecto del orden Dermaptera, depredador de pupas de *H. hampei*.

¹ VÉLEZ H., M.; BUSTILLO P., A.E.; POSADA F., F.J. 2003. Depredación de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) por *Solenopsis geminata* y *Gnamptogenys* sp. (Hymenoptera: Formicidae). In: Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, 30. SOCOLEN, Cali (Colombia), Julio 17-19. p. 26.

Selección de depredadores nativos para la broca del café en Colombia

Wasmannia sp., se presenta con gran frecuencia y causa picazón a las personas, además se ha encontrado que la especie, *W. auropunctata* (Roger) puede eliminar especies de hormigas nativas y otros invertebrados terrestres en áreas recién colonizadas (Fernández, 2003), por lo tanto es una especie que no se recomienda incluir en un programa de manejo integrado, si se pudiera liberar en cafetales. Sin embargo, es muy importante tenerla en cuenta dentro de la estrategia de conservación, ya que se pueden regular poblaciones de insectos como es el caso de *Cosmopolites sordidus* en el plátano (Goitía y Cerda, 1998). *Crematogaster* sp., por el contrario, es una hormiga dócil, que no aguijonea, fácil de manipular y con hábitos de forrajeo arborícola. *Monanus* sp. se encontró en el 95% de las fincas y en el 33% de los frutos hubo evidencias de depredación en el laboratorio. En relación con los demás depredadores encontrados, aunque algunos mostraron acción depredadora en el laboratorio como los hemípteros, no se consideran potenciales debido a su escasa frecuencia en las fincas y en los frutos de café.

Debido a lo anterior, *Crematogaster* sp. (Hymenoptera: Formicidae) y *Monanus* sp. (Coleoptera: Cucujidae), son especies depredadoras que se deben considerar en el manejo integrado de la broca en Colombia. Ambas especies se encontraron en mayor proporción en frutos secos dejados en el árbol al final de la cosecha. *Crematogaster* sp., se encontró además en frutos verdes (30%), lo que podría ser aprovechado después del zoqueo del cafetal, cuando se presentan altos porcentajes de frutos en este estado (Castaño *et al.*, 2005). Sin embargo, es preciso desarrollar más investigaciones para poder manipular estos insectos y producirlos masivamente, y así evaluarlos bajo programas de introducción en zonas infestadas por la broca del café.

En la Tabla 8.1 se presenta una lista de depredadores comúnmente encontrados en la zona cafetera atacando una gran variedad de insectos.

Tabla 8.1. Depredadores de algunos insectos que se encuentran en el ecosistema cafetero en Colombia (Cárdenas y Posada, 2001).

INSECTO PLAGA	DEPREDADOR
Escama circular, <i>Saissetia coffeae</i> (Walker (Homoptera: Coccidae)	<i>Azya</i> sp pos. <i>luteipes</i> Munsant, <i>Chilocorus cacti</i> (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) <i>Baccha bonleyi</i> Curran (Díptera: Syrphidae) (Posada y García 1976)
Escama articulada, <i>Selenaspidus articulatus</i> (Morgan (Homoptera: Diaspididae)	<i>Pentilia castanea</i> Mulsant, <i>Oeneis</i> sp. (Coleoptera: Coccinellidae)
Pulgón verde de la papa, <i>Myzus persicae</i> Sulzer (Homoptera: Aphididae)	<i>Azya</i> sp, <i>Cycloneda sanguinea</i> L. (Coleoptera: Coccinellidae) <i>Chrysoperla</i> sp. (Neuroptera: Chrysopidae) <i>Orius tristicolor</i> Herring (Hemiptera: Anthocoridae) <i>Allograpta argentipila</i> (Fluke (Diptera: Syrphidae)
Áfido del algodón, <i>Aphis gossypii</i> Glover (Homoptera: Aphididae)	<i>Chrysoperla</i> sp. (Neuroptera: Chrysopidae) <i>Azya</i> sp., <i>Scymnus</i> sp., <i>Cycloneda</i> sp. e <i>Hippodamia</i> sp. (Coleoptera: Coccinellidae) <i>Baccha</i> sp. y <i>Allograpta</i> sp. (Diptera: Syrphidae).
Gusano monturita, <i>Sibine fusca</i> Stoll, <i>S. apicalis</i> Dyar, (Lepidoptera: Limacodidae)	<i>Alcaeorrhynchus grandis</i> (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) Avispas <i>Polistes</i> y <i>Polybia</i> (Hymenoptera: Vespidae).
Arañita roja: <i>Oligonychus yotheri</i> (McGregor (Acari: Tetranychidae)	<i>Stethorus</i> sp., <i>Scymnus</i> sp., <i>Coleomegilla</i> sp. (Coleoptera: Coccinellidae) <i>Oligota centralis</i> Sharp (Coleoptera: Staphylinidae)

Literatura citada

- BENASSI, V. 1995. Levantamento dos inimigos naturais da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae) no norte do Espírito Santo. An. Soc. Entomol. Brasil, 24: 635-638.
- BORROR, D. J.; TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. 1992. An introduction to the study of insects. 6th. ed., Saunders College Publishing. 875 p.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; POSADA, F. J. 2002. Natural enemies and competitors of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:Scolytidae) in Colombia. Neotropical Entomology, 31 (4): 635-639.
- CÁRDENAS, R.; POSADA, F. J. 2001. Los insectos y otros habitantes de cafetales y platanales. Comité Departamental de Cafeteros del Quindío, Cenicafé, Armenia, Colombia, 250 p.
- CASTAÑO, A; BENAVIDES, P.; BAKER, P. S. 2005. Dispersión de *Hypothenemus hampei* en cafetales zoqueados. Revista Cenicafé (Colombia), 56 (2):142-150.
- CIBC. COMMONWEALTH INSTITUTE OF BIOLOGICAL CONTROL. 1990. Manual de capacitación en control biológico. Curso de Control Biológico, , Cenicafé, Chinchiná (Colombia), abril – mayo 1990, 174 p.
- DEBACH, P.; ROSEN, D. 1991. Biological control by natural enemies. Cambridge University Press, Cambridge, 440 p.
- FERNÁNDEZ, F. 2003. Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia, 398 p.
- GOITIA, W.; CERDA, H. 1998. Hormigas y otros insectos asociados a musáceas y su relación con *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). Agronomía Tropical (Venezuela), 48 (2):209-224.
- MADRIGAL, A. 2001. Notas sobre Control Biológico de Plagas. Universidad Nacional, Medellín, Colombia, 228 p.
- OSORIO, P. A.; ESPITIA, E.; LUQUE, E. 2001. Reconocimiento de enemigos naturales de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en localidades productoras de papa en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 27 (3-4): 177 –185.
- POSADA, L.; GARCÍA, F. 1976. Lista de predadores, parásitos y patógenos de insectos registrados en Colombia. Bogotá, ICA. Boletín Técnico No. 41. 90 p.
- ROMOSSER, W. S.; STOFFOLANO, J. G. 1998. The science of entomology. McGraw-Hill, Boston, 238 p.
- TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. 2005. Borror and DeLong's. Introduction to the study of insects. 7. ed. Saunders College Publishing. 864 p.
- VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOWES, T. S. 1996. Biological control. Chapman and Hall, New York, 539 p.



CAPÍTULO 9

Los hongos entomopatógenos en el control de insectos

Carmenza Esther Góngora Botero

Los hongos son organismos eucariontes, con un núcleo claramente definido por una membrana, pueden estar compuestos de una célula simple (unicelulares), como es el caso de las levaduras, o como en la mayoría de los casos, estar formado multicelularmente por unidades filamentosas conocidas como hifas, que forman un micelio. Las hifas están formadas por segmentos uninucleados o multinucleados, separados por paredes transversales.

Los primeros organismos que se identificaron como causantes de enfermedades en insectos fueron los hongos, debido a que era posible observar su crecimiento en la cutícula de los insectos (Tanada y Kaya, 1993).

Aunque los hongos raramente son patógenos letales de vertebrados, en muchos casos son patógenos importantes de invertebrados, es decir, que son microorganismos capaces de causar una enfermedad en los insectos (Hajek, 2004), definiendo el término enfermedad, como una condición anormal que ocurre en el insecto debido a desarreglos fisiológicos o físicos. La patogenicidad de un hongo es la condición de ser patógeno, es decir, tener la habilidad de causar una enfermedad en el insecto. Mientras que la virulencia es el grado de patogenicidad, es decir, la cantidad de enfermedad medible que el hongo pueda causar (Shapiro-Ilan *et al.*, 2005). Los hongos patógenos generalmente invaden y se multiplican dentro de los insectos y se conocen como entomopatógenos. Las enfermedades causadas por hongos se denominan micosis.

La mayoría de órdenes de insectos son susceptibles a enfermedades causadas por hongos, y éstos son particularmente importantes para el control de coleópteros, debido a que este orden es especialmente resistente a las enfermedades causadas por virus y bacterias.

Los hongos entomopatógenos están asociados a los insectos en todo tipo de hábitats, en los cuales se incluye agua, suelo y partes aéreas de las plantas (Hajek y St. Leger, 1994). Existen más de 700 especies de hongos que se han reportado como patógenos de artrópodos, y que además, desempeñan un papel importante en la regulación de las poblaciones de insectos (Goettel *et al.*, 2005). Existe también una gran diversidad con respecto a su grado de especiación y su rango de adaptación se extiende desde ser patógenos obligados de algunas especies de insectos (*Coelomomyces*), a ser organismos generalistas capaces de infectar diferentes especies de huéspedes, hasta especies que son patógenos facultativos (*Metarhizium*). Las epizootias causadas por hongos son comunes en algunas especies de insectos, mientras otros, raramente, pueden ser afectados (Tanada y Kaya, 1993). Algunos de estos entomopatógenos, como es el caso de *Beauveria bassiana*, pueden utilizar a las plantas en forma endofita, como un reservorio de entomopatógenos (Rehner *et al.*, 2006).

Dentro del grupo de los patógenos de insectos, los hongos tienen la característica muy particular, que no requieren ser ingeridos por el insecto para causar la enfermedad, ya que ellos pueden penetrar directamente a través de la cutícula del huésped. Su crecimiento y desarrollo está limitado principalmente por condiciones medioambientales, especialmente alta humedad y la temperatura apropiada, según el hongo. Los primeros estudios con hongos entomopatógenos se realizaron en 1800 por Agostino Bassi, quien fue el primero en estudiar la enfermedad del gusano de seda, causada por *Beauveria bassiana*, denominada la muscardina

blanca (Steinhaus, 1975). Sin embargo, no fue sino hasta 1950 que resurgió el interés por usar hongos entomopatógenos para el control de insectos (Goettel *et al.*, 2005). Hoy en día, existen varios productos comerciales disponibles basados básicamente en diez especies de hongos (Shah y Goettel, 1999; Copping, 2001). Sin embargo existe el potencial para el desarrollo de muchas más especies. El conocimiento acerca de la interacciones hongo entomopatógeno-insecto serán los que permitirán el desarrollo de más productos comerciales.

Modo de infección

Las unidades de reproducción de los hongos son llamadas esporas o conidios. Los insectos son usualmente infectados por estas unidades reproductivas. El proceso de infección se puede dividir en tres etapas: 1. Adhesión y germinación de las esporas en la cutícula del insecto; 2. Penetración dentro del hemocelo del insecto; y 3. Desarrollo del hongo, que generalmente termina en la muerte del insecto (Tanada y Kaya, 1993).

Las esporas deben hacer contacto con la cutícula del insecto. Parece ser que se produce una interacción hidrofóbica inicial entre la spora y la superficie de la cutícula (Boucias y Pendland, 1991), que se evidencia por la secreción de una sustancia mucosa adhesiva, a medida que las esporas aumentan su tamaño en el proceso de pregerminación, esta sustancia le permite adherirse a la cutícula. El insecto puede evitar la infección en su cutícula, si el medio no proporciona los factores esenciales para que se produzca la adhesión y el desarrollo de la spora. Específicamente la infección puede suprimirse debido a la baja humedad, a la imposibilidad del hongo de utilizar los nutrientes disponibles en la cutícula del insecto, o por que no se dan los factores necesarios que permiten el reconocimiento de un huésped susceptible o la penetración en el sitio de infección (St. Leger, 1991). En algunos casos, el hongo penetra el insecto por sus aberturas naturales (cavidad bucal, espiráculos). El modo de penetración depende de las propiedades de la cutícula de los insectos.

El reconocimiento de un huésped susceptible incluye señales químicas y características de la cutícula. Experimentos llevados a cabo sobre diferentes superficies, inclusive en la cutícula de insecto, indican que la formación de apresorios depende de que el hongo reciba las señales de inducción apropiadas de la superficie de la cutícula (St. Leger, 1991). En algunos casos, el hongo no puede invadir la cutícula del insecto debido a la presencia de compuestos inhibitorios como pueden ser: fenoles, quinonas y lípidos (Smith y Gula, 1981).

Después que la spora logra unirse a la cutícula y no es inhibida, ésta germina, se diferencia y forma un tubo germinativo que sirve como hifa de penetración o puede formar un apresorio que a través de una fuerza física, crea una presión mecánica, esto junto con la producción de sustancias químicas como son las enzimas, rompen la cutícula del insecto, de tal forma que las hifas penetran la cutícula y se adentran en la cavidad del cuerpo del insecto.

Los hongos entomopatógenos poseen una gran variedad de mecanismos que les permiten romper y asimilar los materiales de los huéspedes y sobreponerse a sus mecanismos de resistencia. El hongo debe producir sustancias que le permitan degradar la cutícula del insecto, sustancias que inhiban procesos específicos del insecto y sustancias que interfieran con el sistema regulatorio del insecto. Estas sustancias no solo corresponden a enzimas sino que también se han reportado toxinas (Hajek y St. Leger, 1994).

Entre las enzimas determinantes de la virulencia de los hongos está el caso de la proteasa Pr1 de *Metarhizium anisopliae* (St. Leger *et al.*, 1992), cuya expresión se produce en el momento de penetración de la cutícula y ocasiona la degradación de las proteínas presentes en la cutícula. La sobreexpresión de esta proteína en *M. anisopliae*, modificado genéticamente (St. Leger *et al.*, 1996), y en *Beauveria bassiana* transformado con el gen que expresa esta proteína (Góngora, 2004; Rodríguez y Góngora, 2005), ocasionó un incremento en la virulencia de estos hongos. En el caso de *B. bassiana* cuando infectó *Hypothenemus hampei*, el incremento en virulencia estuvo alrededor del 30% comparada con las cepas originales, no transformadas.

Con respecto a las toxinas, en algunos casos su importancia en los procesos de patogenicidad no ha sido clara (Gillespie y Claydon, 1989). Sin embargo, para el caso de *M. anisopliae*, la producción y la concentración de la toxina destruxina, un ciclodepsipéptido, en algunas cepas está relacionada con los procesos de virulencia del hongo (Kershaw et al., 1999). La toxina es responsable de afectar varios organelos en las células y causa su parálisis (Roberts, 1969), y por ende disfunción de los órganos de Malpighi, hemocitos y tejido muscular. Otras toxinas reportadas corresponden a beauvericina, en *B. bassiana*, la cual se ha encontrado relacionada con mortalidad de larvas de *H. hampei* (Arboleda et al., 2003). También ha sido reportada en *Verticillium*, ahora *Lecanicillium*, la toxina bassianolide (Kanaoka et al., 1978). Se cree que muchas de estas toxinas además tienen un efecto bactericida, que previene la putrefacción bacteriana de los insectos, lo cual permite el crecimiento del hongo y la momificación del insecto (McCoy et al., 1988).

Estudios recientes realizados por Freimoser et al. (2005), sobre la interacción entomopatógeno-insecto utilizando microarreglos y extensos grupos de secuencias de genes, indican que *M. anisopliae* es capaz de infectar un amplio grupo de insectos. Para esto, los autores utilizaron medios de cultivo que contenían cutícula de *Manduca sexta*, en donde se desarrollaba el hongo, y fueron capaces de inducir la expresión de más de 250 genes que presentan una gran variedad de funciones fisiológicas. Entre ellos se reportan proteínas involucradas en la degradación de cutícula (proteasa), proteínas de transporte y proteínas relacionadas con la regulación de transcripción, al igual que muchos genes con función desconocida. Además, se evidencia la represión de muchas otras proteínas. Los patrones de expresión de genes en respuesta al crecimiento en la cutícula de otros tipos de insectos, tales como cucarachas (*Blaberus giganteus*) y coleópteros (*Popillia japonica*), es diferente a la observada con los lepidópteros, lo que indica que el entomopatógeno responde de una forma específica y precisa ante cada insecto y condición ambiental, con una amplia maquinaria de genes.

Una vez el hongo ha penetrado la cutícula pasa al hemocelo, donde las hifas se convierten en cuerpos hifales o blastosporas y/o protoplastos. Éstos, se diseminan a todas partes del cuerpo del insecto y eventualmente destruyen los órganos internos. La muerte del insecto ocurre por deficiencias nutricionales, invasión y destrucción de los tejidos del insecto y por desbalances metabólicos debido a sustancias tóxicas que son producidas por el hongo (Gillespie y Claydon, 1989).

Dentro de la cavidad del insecto, el éxito de la infección va a depender del potencial genético que tiene el hongo para crecer rápidamente, penetrar las barreras que encuentra en el insecto y resistir las sustancias tóxicas que pueda producir el insecto, así como de sus mecanismos de defensa. El principal mecanismo de defensa del insecto es la encapsulación y melanización de cuerpos extraños. En la encapsulación los granulocitos presentes en la hemolinfa del insecto, por un proceso de fagocitosis, envuelven los cuerpos del hongo, luego los plasmotocitos envuelven los granulocitos y forman un nódulo, en el que el hongo sufre lisis (Gotz, 1986). Este proceso confiere protección al insecto contra cepas con baja virulencia, sin embargo, las cepas altamente virulentas tienen la habilidad de sobreponerse a la encapsulación y continuar con su crecimiento, como ocurre en el caso de *B. bassiana* cuando infecta al gusano de seda, *Bombyx mori* (Hou y Chang, 1985). En otros casos, como se reporta en *M. anisopliae*, la destruxina puede inhibir la formación de nódulos por parálisis de los hemocitos (Huxham et al., 1989).

Otros mecanismos que utiliza el hongo para no ser reconocido por el sistema inmune del insecto, incluyen la pérdida de la pared celular y formación de protoplastos, los cuales al no tener pared, no son reconocidos por los hemocitos del insecto, proceso que ocurre en *Entomophaga aulicae* (Dunphy y Nolan, 1982). Los hongos también utilizan como mecanismo la formación de cuerpos hifales, que se distribuyen rápidamente a todos los órganos; parece ser que la manera que tienen los cuerpos hifales para evitar ser reconocidos por el sistema inmune involucra la presencia del gen *mcl1*, reportado por Wang y St. Leger (2006), en *M. anisopliae*. Este gen codifica una proteína con un dominio tipo colágeno, que funciona como una capa de antiadhesivo que protege y enmascara las estructuras antigénicas (beta glucanos) de la pared de los cuerpos hifales y los carga negativamente, lo que los hace poco reconocibles a los hemocitos. La búsqueda en 54 diferentes genomas de hongos reveló que otras siete especies de entomopatógenos presentan esta proteína, lo que sugiere que éste es un mecanismo de evasión presente en muchos hongos.

Una vez superadas las barreras inmunes del insecto, el hongo crece saprofiticamente, forma una masa de micelio y produce estructuras reproductivas, dentro del hemocelo. Las esporas o hifas estériles emergen del

insecto bajo condiciones apropiadas de humedad y temperatura. Los procesos de producción de esporas, descarga, dispersión, sobrevivencia y germinación dependerán de condiciones ambientales. El gran número de esporas producidas en los cadáveres de insectos, compensa parcialmente la alta probabilidad de que la gran mayoría de ellas no sobrevivan (Hajek y St Leger, 1994)

En el grupo de los Entomophthorales se producen dos tipos de esporas: unas de vida corta, de activa dispersión y ciclo conidial, y otras de vida larga y ciclo de esporas con alta resistencia a condiciones ambientales desfavorables (Keller, 2007). En muchos hongos la producción de esporas que se dispersan va a depender de las condiciones de humedad relativa, como es el caso de *Zoophtora phalloide* y *Entomophaga maimaga*, las cuales solo esporulan y liberan sus esporas cuando la humedad en el medio ambiente es mayor al 95% (Glare y Milner, 1991; Hajek et al., 1990). Sin embargo, *E. muscae* está mejor adaptada a las condiciones de sequedad y puede producir y liberar conidios con humedades hasta del 50% (Mullens y Rodríguez, 1985).

La dispersión de las unidades reproductivas puede ser un proceso activo, en el que son expelidas de los esporóforos, como se observa en el caso de *Cordyceps*, o puede producirse una dispersión pasiva por acción del viento, la cual va a depender de las características de la espora. Luego de que las esporas son producidas y descargadas al medio ambiente, éstas deben sobrevivir hasta entrar en contacto con un nuevo insecto. Las causas de mortalidad de las esporas en el medio ambiente incluyen la radiación solar, debido a los rayos ultravioleta (UV), la altas temperaturas y la desecación (Fuxa, 1987). En el suelo la mortalidad de las esporas puede suceder por microorganismos antagonistas o efectos de fungistáticos como lo registra Pereira et al. (1993), para el caso de *B. bassiana*.

Signos y síntomas de las infecciones

Existen relativamente pocos estudios detallados con respecto a la respuesta en el comportamiento de los insectos afectados por hongos entomopatógenos. Sin embargo, en los estados tempranos de las infecciones los insectos muestran poco o ningún síntoma (Goettel et al. 2005). En algunos casos, cuando la coloración del insecto lo permite, se observan unos puntos necróticos en los sitios de invasión de la cutícula.

A medida que continúa el proceso de infección, el insecto pierde movilidad y algunos días previos a la muerte los síntomas son más evidentes e incluyen las disminuciones en el apetito y en su actividad corporal y coordinación. Este es el caso observado en saltamontes afectados por la infección con *Metarhizium flavoviridae* y *M. anisopliae* var. *acridum* (Moore et al., 1992; Arthurs y Thomas, 2000). Otras respuestas incluyen el incremento del apetito, comportamiento observado en *Leptinotarsa decemlineata*, infectado por *B. bassiana*, en las primeras 24 horas de la infección. Sin embargo, después de este tiempo se observa una disminución en el consumo de alimento (Fargues et al., 1994). Aunque los insectos cuya muerte es causada por hongos entomopatógenos toman más tiempo en morir que los tratados con plaguicidas químicos, el daño que causan éstos en los cultivos agrícolas es menor durante el período de incubación de la enfermedad, debido a que los insectos infectados consumen menos alimento que los sanos; así mismo, la reducción en el consumo de alimento ha sido asociada con las dosis del entomopatógeno utilizadas (Roy et al., 2006).

También se ha registrado incremento de la temperatura, fenómeno observado en moscas infectadas por *Entomophthora muscae* (Watson et al., 1993), y en saltamontes y langostas infectados por *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Kalsbeek et al., 2001). Moller (1993), registró alteración en las preferencias de oviposición y cópula y modificaciones del comportamiento reproductivo del insecto; en general, los insectos infectados producen una menor progenie (Roy et al., 2006). También se ha reportado fototropismo y geotropismo positivos o negativos. Otras respuestas incluyen cambios en el comportamiento que, en general, son de beneficio para el hongo, como es el observado en insectos infectados por hongos del orden Entomophthorales, en los que el insecto cuando está próximo a su muerte se desplaza a posiciones elevadas en la planta, comportamiento que favorece la dispersión del hongo (Roy et al., 2006; Steinkraus et al., 1993).

El incremento en la atracción sexual parece ser otra característica observada en moscas infectadas por hongos Entomophthorales. Este atractivo parece deberse al incremento en los tamaños del abdomen de las moscas cuando están infectadas o a semioquímicos que atraen a los machos (Moller, 1993).

Taxonomía de los hongos entomopatógenos

Por muchos años, la taxonomía de los hongos se ha basado en sus características morfológicas, fisiológicas y de desarrollo. Estas características han determinado la estructura que se conoce actualmente de clase, género y especie. Las complejidades del ciclo de vida de los hongos dieron lugar a que muchos de ellos fueran clasificados no con base en sus características evolutivas, sino en sus funciones comunes, ecología o en función del medio ambiente. Esto ocasionó que algunas especies se clasificaran incorrectamente en el esquema filogenético (Goettel *et al.*, 2005). La forma, morfología y dispersión de las conidios también ha sido un importante criterio de clasificación.

El estudio del DNA y RNA ha permitido entender procesos evolutivos. Las técnicas moleculares que involucran DNA y RNA han sido aplicadas al estudio de la taxonomía jerárquica, entre éstas se encuentran: técnicas que trabajan con DNA basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual permite amplificar el material genético (Edel, 1998). Los fragmentos generados luego de la amplificación se conocen como huellas dactilares o perfil molecular (“fingerprints”), éstas se obtienen usando iniciadores al azar (RAPDs) o utilizando oligómeros específicos (microsatélites, AFLPs, RFLPs) (Caballero *et al.*, 2001). También se han empleado polimorfismos basados en la longitud de los cromosomas (Viaud *et al.* 1996), al igual que el estudio del DNA mitocondrial (Hegedus y Khachaturians, 1993)

La molécula de RNA ribosomal (rRNA) también se ha usado para estudios filogenéticos, gracias a que es una molécula altamente conservada entre organismos. El ribosoma de los eucariontes posee dos subunidades de ARN ribosomal, con diferentes gradientes de sedimentación: 40S y 60S, el cual está codificado por tres genes, 18S, 5.8S y 28S en su orden, éstos poseen dos regiones espaciadoras, el ITS 1, el cual separa el gen 18S del 5.8S y el ITS 2, que separa el gen 5.8S del 28S. Los ITSs al no tener una función aparente, acumulan mutaciones neutrales a lo largo del tiempo, y la comparación de los ITS entre organismos, permite diferenciar individuos relacionados genéticamente. Las regiones espaciadoras se pueden amplificar por PCR, utilizando iniciadores universales descritos por White *et al.* (1990).

En general, durante los últimos años han aparecido diversos artículos científicos que proponen una clasificación del reino de los hongos como es el caso de Hibbet *et al.* (2007), basada en análisis filogenéticos moleculares, con el aval de diversos miembros de la comunidad científica experta en taxonomía de hongos. Hoy en día existe un consenso con respecto a la clasificación macroevolutiva de los siete reinos identificados, con base en la secuencia de los genes ribosomales de las subunidad ribosomales (Woese *et al.*, 1990; Hasegawa *et al.*, 2005). Con respecto a los hongos, también se ha alcanzado un consenso general en relación con su posición evolutiva, con base en la secuencia del gen del rRNA (Berbee y Taylor, 2001).

En cuanto a hongos entomopatógenos, también su clasificación ha sido reconsiderada con base en la secuencia de sus genes conservados e intrones, y se ha aprovechado el polimorfismo en los ITSs del rRNA de éstos. Las secuencias de la subunidad pequeña de rDNA se han usado para examinar las relaciones filogenéticas en *Metarhizium* (Driver *et al.*, 2000) y en el orden de los Entomophthorales (Jensen *et al.*, 1998). En este caso en particular, estos estudios moleculares soportan el uso de las características del tipo de descarga de las esporas como un rango determinante que identifica los Entomophthorales. Este mismo tipo de secuencias (rDNA) fueron las que permitieron la reclasificación del género *Verticillium*, de tal forma que todos los hongos entomopatógenos de este grupo fueron ubicados en el género *Lecanicillium* sp. (Zare *et al.*, 2000).

Clasificación de hongos entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos están presentes en todas las clases de hongos conocidas, posiblemente los más ampliamente distribuidos se encuentran en las divisiones Zigomicota y Ascomicota (Roy *et al.*, 2006). A continuación se incluye una descripción de estos grupos, siguiendo la clasificación de Noyd (2000).

Ascomicota

En la división Ascomicota, clase Sordariomycetes, orden Hypocreales, familia Clavicipitaceae, se encuentran los entomopatógenos más comunes (Roy et al., 2006). Los hongos de la división Ascomicota se caracterizan por tener un micelio septado y haploide. Presentan esporas sexuales denominadas ascosporas, éstas se producen agrupadas en cuerpos fructíferos o ascos, en unas estructuras denominadas ascomatas. Cada asco está formado por ocho ascosporas. Al estado sexual del Ascomyceto se le conoce como teleomorfo, y el estado asexual se denomina anamorfo, y en este caso, se producen conidias en lugar de ascosporas. En esta división el género *Cordyceps*, contiene más de 300 especies de entomopatógenos, este género corresponde a la forma sexual o teleomorfo. Sin embargo, muchos de los ascomicetos aparentemente perdieron la habilidad de formar su estado sexual, y fue debido a esto que en algún tiempo fueron clasificados en el grupo de los hyphomicetos, clasificación que ha sido reconsiderada.

Dentro de esta división existen más de 40 géneros de entomopatógenos a los que no se les conoce la forma sexual, los más representativos son: *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Culicinomyces*, *Gibellula*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Sorospora* y *Tolypocladium*.

Los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, agentes causales de enfermedades en insectos, conocidas como muscardina blanca y verde, respectivamente, han sido reconocidos y desarrollados más ampliamente como ingredientes activos de productos comerciales, por tener un amplio potencial de aplicación como biocontroladores. Entre los productos disponibles en el mercado se encuentran: Mycotrol GH (*B. bassiana*, Mycotech, USA) y Green Muscle (*M. flavoviride*, CABI Bioscience, UK) (Burgess, 1998; Butt y Copping, 2000).

Sin embargo, éstos no son los únicos desarrollados por la industria, también están: DiTera (*Myrothecium verrucaria*, Valent (Sumitomo), USA, Japón), Mycotal (*Lecanicillium lecanii*, Koppert, Holanda) y Biofox C (*Fusarium oxysporium* y *Fusarium moniliforme* SIAPA, Italia) (Burgess, 1998; Butt y Copping, 2000).

Para la producción comercial de entomopatógenos son fundamentales los procesos de producción masiva del hongo y las formulaciones. Entre las formulaciones, las más sencillas son las granuladas, obtenidas a base de arroz o arroz molido. Existen otras que son más laboriosas como las de gránulos de aceite hidrogenado o gránulos de alginato, que han sido utilizadas en la producción de *B. bassiana* (Carballo 1998). Debido a que la temperatura y la humedad son los factores que afectan principalmente la eficacia de los hongos, se han utilizado surfactantes como Tween 20, que permiten reducir la tensión superficial y mejoran la dispersión de las esporas cuando son asperjadas (Fernández y Juncosa, 2002). Entre los bioplaguicidas en proceso de desarrollo a gran escala, están *Nomuraea rileyi* e *Hirsutella thompsonii* (Rosset y Moore, 1998).

La comercialización de los productos para el control biológico con entomopatógenos requiere de un control de calidad adecuado de éstos, en donde las propiedades biológicas, físicas y químicas de los hongos (concentración de esporas, porcentajes de germinación y pureza), al igual que su eficacia sobre los insectos sea asegurada al usuario, de tal manera que los productos presenten una máxima eficacia en el campo (Vélez et al., 1997; Carballo, 1998).

***Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales).** Esta es la especie de entomopatógeno comercialmente más utilizada alrededor del mundo, contra un gran número de insectos plaga. Las formulaciones consisten en conidios, en forma de polvo, para ser resuspendidos en agua o en aceites emulsivos (Figura 9.1). Se ha reportado su uso en plantaciones comerciales en Brasil para el control del picudo del plátano (*Cosmopolites sordidus*) (Alves et al., 2003) y en China para el control de lepidópteros plaga (*Dendrolimus* sp.), en plantaciones de pinos (Feng 2003). Se ha estimado que en China, por varias décadas, se produjeron y aplicaron alrededor de 10.000 toneladas de conidios de *B. bassiana*, para el control de plagas agrícolas y de plantaciones forestales (Feng et al., 1994).

En Colombia, este hongo se registró atacando la broca del café, tan pronto como ésta hizo su aparición en el sur del país (Vélez y Benavides, 1990). Es un controlador natural de esta plaga del café, se encuentra infectando el insecto prácticamente en todos los países donde se ha dispersado. El hongo hace parte de



■ **Figura 9.1.** Hongo *Beauveria bassiana* sobre larvas del defoliador del maracuyá, *Agraulis junco* (Foto A. Bustillo).

la estrategia de manejo integrado de la broca y se recomienda su uso por parte de la FNC-Cenicafé (Bustillo *et al.*, 1998; Bustillo, 2004). Durante 1992 se utilizaron cinco toneladas del hongo y en 1998 se incrementó a 300 toneladas, con la selección de las cepas más virulentas para el control de la broca del café (Bustillo, 2002a).

La incidencia del hongo varía de un país a otro y aunque estas diferencias pueden deberse a factores climáticos, es también posible suponer que la broca está mejor adaptada al hongo en África, pero sucumbe a razas exóticas que encuentra cuando llega a un nuevo sitio (Moore y Prior, 1988). Jiménez (1992) y Cruz *et al.* (2006), demostraron que entre cepas de *B. bassiana* existen diferencias en virulencia hacia la broca del café.

***Lecanicillium lecanii* (Ascomycota: Hypocreales).** Es utilizado principalmente en el control de plagas en invernadero, donde la humedad del ambiente puede ser modificada. Es efectivo para el control de insectos chupadores como áfidos, mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y trips (Copping, 2001; Wraight *et al.*, 2001). También existen productos disponibles en Colombia y Perú para el control de lepidópteros y dípteros (Shah y Goettl, 1999) (Figura 9.2).



■ **Figura 9.2.** *Lecanicillium lecanii* sobre un adulto de un Cicadellidae en fríjol (Foto A. Bustillo).

Una de las limitaciones en el uso de este hongo se refiere a las estrictas condiciones de alta humedad que se requieren para el desarrollo del hongo. Sin embargo, recientes avances en formulaciones producidas en Inglaterra, han logrado un adyuvante basado en un aceite vegetal emulsivo que permite la acción del hongo a bajas humedades (Milner, 1997; Shah y Pell, 2003).

***Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales).** El uso de *M. anisopliae* (Figura 9.3) para el control de muchos insectos plaga está ampliamente documentado. Quizás uno de los programas mejor conocidos es el control de langostas en África (Lomer *et al.*, 2001) y en Australia (Copping, 2001) usando *M. anisopliae* var. *acridum*. El hongo tiene dos presentaciones comerciales: Green Muscle TM y Green Guard TM (Miller y Hunter, 2001).

El desarrollo del producto "Green Muscle", se hizo después de 12 años de investigaciones, con un costo de US\$ 17 millones (Shah y Pell, 2003). Este producto es recomendado por la Organización de las Naciones Unidas por la Alimentación y la Agricultura, para el control de langostas migratorias (Lomer *et al.*, 2001).

M. anisopliae también se ha utilizado en Brasil para el control de salivitas o miones, *Mahanarva posticata*, en caña de azúcar (Guagliumi, 1973;



■ **Figura 9.3.** Hongo *Metarhizium anisopliae* infectando adultos de *Metamasius hemipterus* plaga del plátano (Foto A. Bustillo).

Alves, 1998). En este cultivo se asperjan anualmente unas 150.000 ha. También se ha registrado el uso comercial de este hongo para el control de termitas en Australia y Estados Unidos (Hanel y Watson, 1983).

Uno de los hechos por los cuales este hongo es bastante efectivo contra plagas del suelo se debe a la supervivencia de sus conidios en el suelo por varios años. Milner y Lutton (1976), encontraron que los conidios permanecen viables entre 250 a 560 días en el suelo a 16°C, sin embargo, la supervivencia se reduce a temperaturas por encima o por debajo de ésta, aunque no se encontraron diferencias en la supervivencia a diferentes humedades.

***Paecilomyces fumosoroseus* (Ascomycota: Hypocreales).** Este hongo es utilizado en el control de plagas de invernadero como moscas blancas, áfidos y trips (Copping, 2001; Alves *et al.*, 2003). También se utiliza en el control de *Cacopsylla* (= *Psylla*) *pyricola*, plaga de la pera, en combinación con formulaciones comerciales de *B. bassiana* (Puterka, 1999).

Zigomicota

Entomophthorales

La división Zigomicota, clase Zigomicetes, orden Entomophthorales (Roy *al.*, 2006), presenta cinco familias: Ancylistaceae, Copletoriaceae, Entomophthoraceae, Meristacraceae y Neozygitaceae (Keller y Petrini, 2005). Las especies entomopatógenas de artrópodos se encuentran en la familia Ancylistaceae (género *Conidiobolus*), en Entomophthoraceae con 12 géneros, y Neozygitaceae con dos géneros. En la familia Meristacraceae solo hay una especie, *Meristacrum milkoi*, y en la Neozygitaceae todos los géneros son entomopatógenos. Actualmente, se han descrito 223 especies de entomopatógenos entomophthorales, 195 especies pertenecientes a la familia Entomophthoraceae, 17 a la familia Neozygitaceae y 10 a la familia Ancylistaceae (*Conidiobolus*). De las 185 especies de entomopatógenos entomophthorales 176 atacan insectos de la mayoría de los órdenes (Keller y Wegensteiner, 2007). Los principales géneros que contienen entomopatógenos en este orden son: *Conidiobolus*, *Entomophaga*, *Erynia*, *Furia*, *Massospora*, *Neozygites*, *Pandora*, *Strongwellsea* y *Zoophtora* (Goettel *et al.*, 2005).

Tradicionalmente el orden Entomophthorales se clasifica por las características de sus hifas no septadas y multinucleadas y por la producción de zigosporas. Su importancia radica en su habilidad para causar grandes epizootias y reducir la población de insectos dramáticamente en un corto tiempo. Son enemigos naturales importantes y reguladores de poblaciones de insectos. Los insectos infectados por entomophthorales generalmente mueren en lugares expuestos en la parte superior de las plantas, pegados a las paredes o a partes de la planta. Cuando la humedad relativa es baja el hongo no esporula y no se observan señales del hongo en los cadáveres. Sin embargo, cuando el hongo entra en su etapa de esporulación, debido a altas humedades relativas, el hongo empieza a esporular y descarga sus esporas.

El ciclo de vida del hongo se puede dividir en un ciclo conidial y un ciclo de esporas de reposo. Los conidios facilitan la propagación y dispersión del hongo, mientras que las esporas aseguran la supervivencia del hongo en condiciones desfavorables (Keller, 2007).

El crecimiento y la esporulación *in vitro* de especies de Entomophthorales, en medios artificiales como Sabouraud agar o papa dextrosa agar es difícil, pero algunas especies se pueden producir en forma de cuerpos hifales (Papierok, 2007). Soper *et al.* (1975), describieron una técnica para la producción masiva de esporas inactivas de *Entomophthora* usando un medio sólido preparado con Sabouraud-maltosa-agar (30 mL) y yema de huevo (100 mL). Después de 4-5 semanas de incubación a 25°C, las esporas inactivas se separan del micelio por centrifugación, se secan al aire y se almacenan a 4°C. Con este procedimiento se produce aproximadamente 1 kg de esporas inactivas.

Aunque las especies de *Entomophthora* juegan un papel muy importante en la regulación de insectos plagas, para que puedan convertirse en agentes de control, manipulados por el hombre, se requieren: mayores estudios sobre la producción de conidios en medios de cultivo, determinar el efecto de las condiciones

ambientales para el desarrollo de epizootias y determinar su inocuidad en animales, ya que éste ha sido uno de los limitantes en el desarrollo comercial de este grupo como controlador biológico.

Chytridiomycota

La pared celular de estos organismos contiene quitina, tiene zoosporas uniflagelados y gametos que forman un tallo. El género *Coelomomyces* contiene más de 70 especies entomopatógenas. Atacan principalmente dípteros (mosquitos, zancudos) y heterópteros.

Oomycota

Actualmente este Phylum no se considera dentro del grupo de los hongos, debido a que su pared celular contiene celulosa y presentan zoosporas bi-flagelas. La especie entomopatógena mejor conocida de este grupo es *Lagenidium giganteum* que ataca larvas de mosquitos.

Variabilidad genética de los hongos entomopatógenos

Debido a la complejidad en la identificación de los diferentes aislamientos de hongos, el estudio del DNA y las técnicas moleculares junto con el desarrollo de marcadores moleculares, ha sido también utilizado como una alternativa rápida y eficaz para la selección de cepas altamente virulentas y para profundizar en el conocimiento de la diversidad genética de éstas.

Los marcadores moleculares son características genéticas que se encuentran asociadas y estadísticamente correlacionadas, con un rasgo de interés. Se utilizan para el análisis del genoma de organismos vivos y permiten la evaluación de la diversidad genética de una población en estudio.

Las moléculas que pueden ser marcadores moleculares son proteínas: antígenos e isoenzimas, el RNA y el DNA a nivel de genes conocidos, fragmentos de secuencia o fragmentos con función desconocida (Caballero *et al.*, 2001). El uso de estos marcadores en hongos se presenta como una alternativa ante la dificultad en su clasificación. El desarrollo de marcadores moleculares basados en ácidos nucleicos ha permitido un conocimiento más detallado de la estructura y la heterogeneidad de cada especie fúngica, así como una mayor confiabilidad en cuanto a la identificación.

La aplicación del uso de marcadores moleculares para el estudio de variabilidad genética se inició en la década de los noventa. Como un ejemplo se enumeran los estudios de determinación de la variabilidad genética intraespecífica del hongo *Beauveria bassiana* por medio de isoenzimas (St Leger *et al.*, 1992 b), RAPDs (Berreta *et al.*, 1997; Maurer *et al.*, 1997), ITS-RFLPs (Glare y Inwood, 1998; Gaitán *et al.*, 2002; Coates *et al.*, 2002a), AFLPs (Cruz *et al.* 2006) y mini satélites (Coates *et al.*, 2002b).

St. Leger *et al.* (1992 b), realizaron uno de los trabajos pioneros en la determinación de la variabilidad genética en poblaciones de 138 aislamientos de hongos de diferentes partes del mundo. Como marcadores moleculares se usaron isoenzimas. Los resultados demostraron que en la población analizada con estos marcadores la variabilidad era mínima, los autores concluyeron que la distribución global estaba dada por poblaciones clonales.

Posteriormente, con los avances en biología molecular, se comenzó el estudio ya no de las proteínas, sino del ADN de *Beauveria bassiana*, Castrillo *et al.* (1998) realizaron aislamientos de áreas geográficas muy definidas en el estado de Carolina del Norte, a partir de un insecto hospedero, y esta vez con marcadores RAPDs, encontraron que no se presentaban poblaciones clonales sino una mezcla de genotipos, que de todas maneras no diferían mucho entre sí.

Gaitán *et al.* (2002) estudiaron 95 aislamientos de *B. bassiana* de diferentes insectos hospederos, incluyendo muestras de Colombia y de varios lugares del mundo. Con el uso de marcadores moleculares RAPDs e ITSs,

se encontró que la mayoría de las cepas se ubicaban en un gran grupo principal, donde la variabilidad intraespecífica era baja, pero que no se trataba de poblaciones clonales. La causa de esta diversidad genética intraespecífica, al tener en cuenta que estas variaciones no provenían de una recombinación cromosómica, ya que este hongo no se reproduce sexualmente, podría conectarse con fenómenos de recombinación parasexual (Paccola-Meirelles y Azevedo, 1991) y de mutaciones espontáneas. Igualmente no se pudieron correlacionar genotipos de *B. bassiana* con su especificidad frente a un hospedero específico, ni agrupar las cepas por localidad. El uso combinado de diferentes técnicas moleculares es fundamental para tener una visión más detallada del genoma y de la estructura poblacional de este hongo, lo cual se ve reflejado en datos más completos que definan su diversidad.

Mezclas de hongos para el control de insectos

El uso de formulaciones de hongos entomopatógenos se ha caracterizado por la aplicación de una sola cepa. Sin embargo, esta práctica de producir y aplicar un solo aislamiento clonal seleccionado por su virulencia hacia un insecto puede resultar en una supresión corta y limitada de la plaga (Boucias *et al.*, 2000). Se cree que más de un haplotipo o clon puede ser requerido para iniciar y mantener en el campo una epizootia en una población natural de insectos heterogénea (Tigano - Milani *et al.*, 1995). La variabilidad de la cepa es el factor que permitiría al hongo adaptarse a las cambiantes condiciones medioambientales y atacar exitosamente diferentes poblaciones de insectos (Cruz *et al.*, 2006). Otra aproximación al mejoramiento de la eficiencia de los entomopatógenos puede ser el uso de mezclas de antagonistas, ya que ellos pueden ampliar el espectro de actividad de los hongos en diferentes ambientes y facilitar la combinación de varias cepas.

Con el fin de obtener una mayor eficacia de los hongos biocontroladores, se ha profundizado en el conocimiento de los mecanismos genéticos que dan a estos hongos sus características de patogenicidad y virulencia. El uso de mezclas de cepas con otros biocontroladores ya ha sido reportado en el control biológico. En Colombia, se ha reportado el uso de cocteles microbianos consistentes en mezclas de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *N. rileyi*, *P. fumosoroseus* y la bacteria *Bacillus thuringiensis*. La mezcla está registrada para ser usada en una gran variedad de insectos plagas como lepidópteros, coleópteros, hemípteros, dípteros y ácaros (Alves *et al.*, 2003).

Este tipo de mezclas no sólo incrementan el espectro de acción sino que también aseguran su acción bajo diferentes condiciones ambientales. Inglis *et al.* (1997), determinaron que una mezcla de *B. bassiana*, por su resistencia a bajas temperaturas, y *M. anisopliae*, por su resistencia a altas temperaturas, podría ser más efectiva para el control de saltamontes que las cepas usadas individualmente.

Ensayos con marcadores moleculares para identificar mezclas de cepas o cepas coformuladas, también han sido registrados en la literatura. Leal - Bertoli *et al.* (2000), diferenciaron molecularmente dos cepas coformuladas de *M. anisopliae* infectando *Phaedon cochleariae*. Wang *et al.* (2002), identificaron dos cepas de *Beauveria* infectando *Galleria mellonella*. En los dos experimentos bajo condiciones *in vitro* una cepa dominó sobre la otra. En condiciones naturales, sin embargo, ha sido reportada la presencia de diversidad de cepas de *Beauveria* en muestras recolectadas de epizootias, lo cual sugiere que el desarrollo de una infección exitosa requiere de la mezcla de genotipos que difieran genéticamente (Castrillo *et al.*, 1998). Además, los trabajos de Wang *et al.* (2004) muestran que el monitoreo de la aplicación masiva de dos cepas de *B. bassiana* resultó en coinfección o recombinación genética de los dos aislamientos, sin que se presentara una dominancia de una cepa en particular.

En Colombia, Cruz *et al.* (2006) diferenciaron genéticamente 11 cepas de *Beauveria bassiana*, del cepario de hongos entomopatógenos de Cenicafé, y evaluaron en el laboratorio el efecto de las mezclas de conidios sobre la broca del café. Los resultados permitieron observar efectos sinérgicos como antagónicos, ya que al mezclar cepas similares genéticamente no se observaron diferencias respecto a la virulencia. Al mezclar cepas con virulencias superiores al 85% y diferentes genéticamente, se obtuvieron mortalidades alrededor del 57%, mientras que al mezclar cepas con virulencias inferiores al 80%, también diferentes genéticamente, se obtuvieron los mayores porcentajes de mortalidad (93%), por lo tanto, el potencial biocontrolador de esta mezcla es promisorio. Cuando el mismo experimento se realizó en cafetales infestados con broca,

igualmente, se registró el mayor porcentaje de mortalidad con la mezcla de cepas de baja virulencia (67%) (Cárdenas *et al.*, 2006).

Epizootias

Los hongos entomopatógenos son reconocidos por su habilidad de disminuir rápidamente una población de insectos a través de epizootias, y es debido a esto que han sido utilizados como controladores biológicos en estrategias de manejo integrado de plagas. Las epizootias son situaciones en las que una proporción de individuos afectados por una enfermedad, se encuentra más alta que lo que se observaría en condiciones naturales normales (Tanada y Kaya, 1993). Generalmente, en estos casos se tiene como referencia un control natural, que en el contexto de la entomología, es el control que sucede en las poblaciones de insectos sin intervención del hombre e incluye además, de la mortalidad causada por enemigos naturales, la acción de factores abióticos del medio.

Las epizootias se han registrado en poblaciones de áfidos infectadas con Entomophthorales, como *Erynia radicans* (Carruthers y Soper, 1987) y *Neozygites fresenii* (Steinkraus *et al.*, 1996). También en poblaciones de dípteros que se han encontrado infectados con *Entomophthora muscae* (Steinkraus *et al.*, 1993) y lepidópteros como *Lymantria dispar* infectados por *Entomophaga maimaga* (Hajek, 1999). Estas epizootias también pueden ocurrir en ambientes acuáticos, como las causadas por *Coelomomyces* y *Lagenidium* en mosquitos (Chapman, 1974). En Colombia, son comunes las infecciones de *Nomuraea rileyi* sobre el cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*) (Figura 9.4), el defoliador de leguminosas (*Anticarsia gemmatilis*) y las causadas en cafetales por *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei* (Bustillo 2001, 2002b).

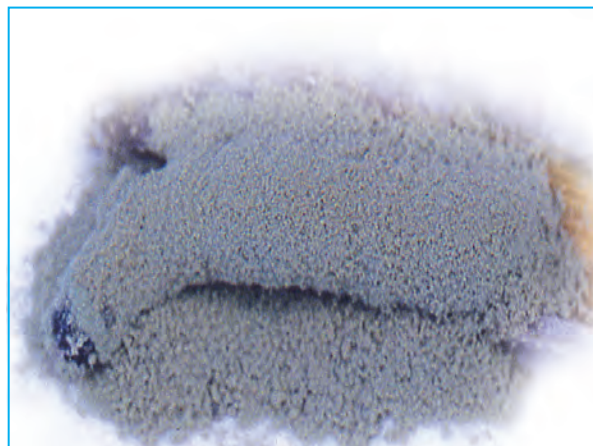


Figura 9.4. Hongo *Nomuraea rileyi* en una larva de *Spodoptera frugiperda* (Foto A. Bustillo).

Control de plagas con hongos

El control de insectos plagas en cultivos, consiste en la aplicación de entomopatógenos nativos o introducidos, con el fin de lograr una reducción de la población de insectos, de tal forma que no se alcance en el cultivo niveles de daño económico. Esta estrategia es muy similar a la de aplicación de productos fitosanitarios, tanto en sus objetivos como en su formulación y forma de aplicación. Está relacionada con el control a corto plazo.

En general, el grupo de los hongos Ascomycetos son los más utilizados para el control por inoculación inundativa, debido a que se pueden producir relativamente fácil, son de rápido crecimiento, se pueden formular y tienen una vida media superior a otros hongos. Existen varias especies que se han desarrollado comercialmente alrededor del mundo como se describió previamente.

El éxito en el uso de estos organismos radica en la selección de cepas altamente virulentas para el insecto que se desea controlar, el desarrollo de productos formulados que permitan su sobrevivencia bajo condiciones ambientales desfavorables, y que se apliquen usando la tecnología de aspersiones.

Perspectivas en el uso de hongos

El éxito de los programas de control biológico empleando entomopatógenos va a depender de la competitividad de los productos en el mercado, la eficacia de los entomopatógenos y el avance en su mejoramiento con respecto a características de virulencia y resistencia a condiciones medioambientales desfavorables. Además, se requiere concientizar a los agricultores de las ventajas del uso de hongos entomopatógenos con respecto a los efectos positivos de éstos sobre el medio ambiente al ser comparados con insecticidas químicos.

Es fundamental, para el caso de cada ecosistema y cada plaga tener un conocimiento acerca de las interacciones insecto-hongo-entomopatógenos, y solamente este conocimiento permitirá usar las cepas más virulentas, combinaciones de cepas o mezclas de diferentes hongos para lograr el control de los insectos a niveles que no ocasionen daños económicos a los agricultores. El interés en el mercado por una agricultura orgánica y el conocimiento de los daños que ocasionan el uso de insecticidas químicos al igual que los programas de manejo integrado de plagas, también abren un nuevo campo para el uso de este tipo de biocontroladores.

Literatura citada

- ALVES, S. B. 1998. Fungos entomopatogênicos. In: Alves, S. B., (Ed.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, p. 289-381.
- ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M.; LOPES, R.; TAMAIMA, B. 2003. Use of entomopathogenic fungi in Latin America. In: Advances in microbial control of insect pests, Upadhyay, R. K. ed., Kluwer, New York, p. 193-211.
- ARBOLEDA, J. W.; DELGADO, F.; VALENCIA A. 2003. Efecto de la toxina beauvericina sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Manejo integrado de plagas, 68: 71-76.
- ARTHURS, S.; THOMAS, M. B. 2000. Effects of a mycoinsecticide on feeding and fecundity of the brown locust, *Locustana pardalina*. Biocontrol Science and Technology, 10 (3): 321 - 329
- BERBEE, M. L.; TAYLOR, J. W. 2001. Fungal molecular evolution: gene trees and geologic time. In: The Mycota: A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research, Systematics and Evolution, Part B. McLaughlin, D. J.; McLaughlin E. G.; Lenke, P. A. (eds.), Springer Verlag, Berlin, p. 229-245.
- BERRETTA, M. F.; LECUONA, R. E.; ZANDOMENI, R. O.; GRAU, O. 1997. Genotyping isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* by RAPD with fluorescent labels. J. Invertebr. Pathol., 71: 145-150.
- BOUCIAS, D.; PENDLAND, J. 1991. Attachment of mycopathogens to cuticle. In: The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals, , G. T. Cole; H. C. Hoch, Eds. New York, Plenum Press, p. 101-127.
- BOUCIAS, D., STOKES, C.; SUAZO, A.; FUNDERBURK, J. 2000. AFLP analysis of the entomopathogen *Nomuraea rileyi*. Mycologia, 92: 638-648.
- BURGES, H. D. 2000 Techniques for testing microbial for control of arthropod pests in greenhouse. In: Lacey L.A., Kaya H. K. (eds), Field manual of techniques in invertebrate pathology: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pest, Kluwer Academic, Dordrecht, p. 505 – 526.
- BUSTILLO, A. E. 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. In: Memorias Seminario "Uso de entomopatógenos en Colombia", p. 30 - 53, Sociedad Colombiana de Entomología, Socolen, Comité Regional de Cundinamarca, Bogotá, D. C., 12 de octubre de 2001. julio 28-30 de 1999, 60 p.
- BUSTILLO, A. E. 2002a. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. Boletín técnico N 24. FNC - Cenicafé, Chinchiná, Colombia, 40 p.
- BUSTILLO, A. E. 2002b. Los hongos entomopatógenos en el control de insectos plagas. In: Memorias Curso Internacional Teórico – Práctico. Sección I. Entomopatógenos de la broca del café. Cenicafé, Chinchiná, marzo 11 al 15 del 2002. p. 1 – 53.

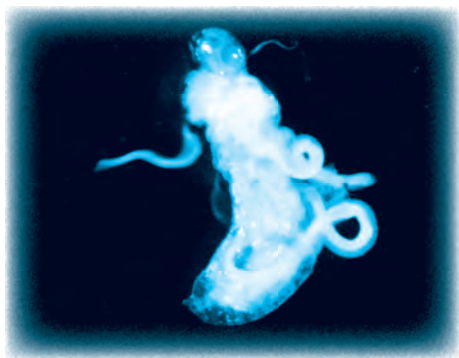
- BUSTILLO, A. E. 2004. ¿Cómo participa el hongo *Beauveria bassiana* en el manejo integrado de la broca del café?. Cenicafé. Brocarta No. 37. Enero de 2004. 4p.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA, F., J. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. FNC – Cenicafé. Editorial Feriva S. A. Cali, Colombia. 134 p.
- BUTT, T. M.; COPPING, L. 2000. Fungal biological control agents. Pesticide Outlook 11, 186 – 191.
- CABALLERO, J. L.; VALPUESTA, V.; MUÑOZ, J. 2001. Introducción a la biotecnología vegetal: Métodos y aplicaciones. Ed. Publicaciones Obra Social y Cultural Cajasur, Córdoba, p 165-195.
- CARBALLO, M. 1998. Formulación de hongos entomopatógenos. Rev. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 47: 1-4
- CÁRDENAS, A. B. 2006. Evaluación de la eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Tesis Agrónomo. Santa Rosa de Cabal (Colombia). 74 p.
- CASTRILLO, L. A.; WIEGMANN, B. M.; BROOKS, W. M. 1998. Genetic variation in *Beauveria bassiana* populations associated with the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. J. Invertebr. Pathol., 73: 269-275.
- CARRUTHERS, R. I.; SOPER, R. S. 1987. Fungal diseases. In: Fuxa J. R; Tanada Y. (eds). Epizootiology of insect diseases. John Wiley and Sons, New York, p. 357-416.
- CHAPMAN, H. C. 1974. Biological control of mosquito larvae. Annual Review of Entomology, p. 33-59.
- COATES, B. S.; HELLMICH, R. L.; LEWIS, L. C. 2002 a. *Beauveria bassiana* haplotype determination based on nuclear rDNA internal transcribed spacer PCR-RFLP. Mycol. Res., 106 (1): 40-50.
- COATES, B. S.; HELLMICH, R. L.; LEWIS, L. C. 2002 b. Allelic variation of a *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) minisatellite is independent of host range and geographic origin. Genome, 45: 125-132.
- COOPING, L. G. 2001. The biopesticide manual. British Crop Protection Council. Second Edition, 510 p.
- CRUZ, L. P.; GAITÁN, A. L.; GÓNGORA, C. E. 2006. Exploiting the genetic diversity of *Beauveria bassiana* for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. Applied Microbiology and Biotechnology, 71 (6): 918-926.
- DRIVER, F.; MILNER, R. J.; TRUEMAN, J. W. H. 2000. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data Mycological Research, 104: 134-150.
- DUNPHY, G. B.; NOLAN, R. A 1982. Cellular immune response of spruce budworm larvae to *Entomophthora egressa* protoplasts and other test particles. J. Invertebr. Pathol., 39: 81-92.
- EDEL, V. 1998. Use of PCR and RFLP in fungal systematics. In: FRISVAD, J. C.; BRIDGE, P. D.; ARORA, D. K., eds. Chemical fungal taxonomy. New York, Marcel Dekker, 398 p.
- FARGUES, J.; DELMAS, J. C.; LEBRUN, R. A. 1994. Leaf consumption by larvae of the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogen, *Beauveria bassiana*. J. Econom. Entomol., 87 (11): 67-71.
- FENG, M. G. 2003. Microbial control of insect pests with entomopathogenic fungi in China: A decade's progress in research and utilization. In: Upadhyay R. K. (ed). Advances in Microbial Control of Insect Pests. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, p. 213-234.
- FENG, M. G; POPRAWSKI, T. J; KHACHATOURIANS, G. G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocontrol Science and Technology, 4 (1): 3-34.
- FERNÁNDEZ, C.; JUNCOSA, R. 2002. Biopesticidas: ¿La agricultura del futuro? Phytoma, 141: 14 – 19.
- FREIMOSER, F. M.; HU, G.; ST LEGER, R. J. 2005. Variation in gene expression patterns as the insect pathogen *Metarhizium anisopliae* adapts to different host cuticles or nutrient deprivation *in vitro*. Microbiology, 151: 361-371.

- FUXA, J. R. 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. *Annual Review of Entomology*, 32: 225-251.
- GAITÁN, A.; VALDERRAMA, A.; SILDARRIAGA, G.; VÉLEZ, P.; BUSTILLO, A. E. 2002. Genetic variability of *Beauveria bassiana* associated to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* and other insects. *Mycological Research*, 106 (11): 1307-1314.
- GILLESPIE, A. T.; CLAYDON, N. 1989. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis, *Pest Sci.*, 27: 203-205.
- GLARE, J. R.; INWOOD, A. I. 1998. Morphological and genetic characterization of *Beauveria* spp., from New Zealand. *Mycological Research*, 102: 250-256.
- GLARE, T. R.; MILNER, R. J. 1991. Ecology of entomopathogenic fungi. In: *Handbook of applied mycology*, Vol 2: Human, animals, and insects. Arora, D. K.; Ajello, L.; Mukerji, K. G., Pugh, J. G. F., Editors. New York, Marcel Dekker, p. 547-612.
- GOETTEL, M. S.; EILENBERG, J.; GLARE, T. 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect population. In: *Comprehensive molecular insect science*. Vol. 6. Gilbert L. I., Latrou K., Gill S. S, Editors. Elsevier Pergamon, p. 361-405.
- GÓNGORA, C. E. 2004. Transformación de *Beauveria bassiana* cepa (Bb9112) con los genes de la proteína verde fluorescente y la proteasa pr1A de *Metarhizium anisopliae*. *Revista Colombiana de Entomología*, 30:15-21.
- GOTZ, P. 1986. Encapsulation in arthropods. In: *Immunity in invertebrates*, ed. M. Brehelin, Berlin: Springer-Verlag, p 153-70.
- GUAGLIUMI, P. 1973. Cigarrinha da raiz. In: GUAGLIUMI, P. (Ed.), *Pragas da cana-de-açúcar*. Nordeste do Brasil. Rio de Janeiro: IAA, p. 69-103. (Coleção canavieira).
- HAJEK, A. E. 1999. Pathology and epizootiology of *Entomophaga maimaiga* infections in forest Lepidoptera. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63 (4): 814-835.
- HAJEK, A. E. 2004. Fungi and microsporidia. In: *Natural Enemies. An introduction to biological control*. Chapter 12. Cambridge University press, p. 203-213.
- HAJEK, A. E.; ST. LEGER, R. J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39: 293-322.
- HAJEK, A. E.; CARRUTHERS, R. I.; SOPER, R. S. 1990. Temperature and moisture relations of sporulation and germination by *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), a fungal pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environmental Entomology*, 19 (1): 85-90.
- HANEL, H.; WATSON, J. A. L. 1983. Preliminary field test on the use of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termitidae). *Bull. Entomol. Res.*, 73: 305-313.
- HASEGAWA, M.; LIDA, Y.; YANO, T.; TAKAIWA, F.; IWABUCHI, M. 2005. Phylogenetic relationships among eukaryotic kingdoms inferred from ribosomal RNA sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 22 (1): 32-38.
- HEGEDUS, D. D.; KHACHATOURIANS, G. G. 1993. Identification of molecular variants in mitochondrial DNAs of members of the genera *Beauveria*, *Verticillium*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium*, and *Metarhizium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (12): 4283-4288.
- HIBBETT, D. S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J. F.; BLACKWELL, M.; CANNON, D. P. F.; ERIKSSONE, O. E.; HUHNDOFF, S.; JAMESG, T.; KIRKD, P. M.; LÜCKINGF, R.; LUMBSCHF, H. T.; LUTZONIG, F.; BRANDON, M. ATHENYA, P.; MCLAUGHLIN, D. J.; POWELLI, M. J.; REDHEAD, J. S.; SCHOCHK, C. L.; SPATAFORAK, J. W.; STALPERSL, J. A.; VILGALYSG, R. 2007. Higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycological Research*, 11 (5): 509-547.
- HOU, R. F.; CHANG, J. 1985. Cellular defense response to *Beauveria bassiana* in the silkworm, *Bombyx mori*. *Appl. Ent. Zool.*, 20: 118-125.

- HUXHAM, I. M.; LACKIE, A. M.; Mc CORKINDALE, N. J. 1989. Inhibitory effects of cyclodepsipeptides, destruxins, from the fungus *Metarhizium anisopliae*, on cellular immunity in insects. *Journal of Insect Physiology*, 35: 97-105.
- INGLIS, D.; JOHNSON, D. L.; GOETTEL, M. S. 1997. Use of pathogen combinations to overcome the constraints of temperature on entomopathogenic Hyphomycetes against grasshoppers. *Biological Control*, 8: 143-152.
- JENSEN, A. B.; GARGAS, A.; EILENBERG, J.; ROSENDAHL, S. 1998. Relationships of the insect-pathogenic order Entomophthorales (Zygomycota, Fungi) based on phylogenetic analysis of nuclear small subunit ribosomal DNA sequences (SSU rDNA) *Fungal Gen. Biol.*, 24: 325-334.
- JIMÉNEZ, J. A. 1992. Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. *Revista Cenicafe*, 43 (3): 84-89
- KALSBEEK, V.; MULLENS, B. A.; JESPERSEN, J. B. 2001. Field studies of *Entomophthora* (Zygomycetes: Entomophthorales) - induced behavioral fever in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Denmark. *Biological Control*, 21 (3): 264-273.
- KANAOKA, M.; ISOGAI, S.; MURAKOSHI, M.; ICHINOE, M.; SUZUKI, A.; TAMURA, S. 1978. Bassianolide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. *Agric. Biol. Chem.*, 42: 629-635.
- KELLER, S. 2007. Fungal structure and biology. *In: Arthropod - pathogenic Entomophthorales: Biology, ecology, identification*. Ed., Siefried Keller. COST Action 842 p.
- KELLER, S.; WEGENSTEINER, R. 2007. Introduction. *In: Arthropod-pathogenic Entomophthorales: Biology, ecology, identification*. Editor Siefried Keller. Cost Action 842. p 1-6.
- KELLER, S.; PETRINI, O. 2005. Keys to the identification of the arthropod pathogenic genera of the families Entomophthoraceae and Neozygitaceae (Zygomycetes), with descriptions of three new subfamilies and a new genus. *Sydowia*, 57: 23-53.
- KERSHAW, M. J.; MOORHOUSE, E. R.; BATEMAN, R.; REYNOLDS, S.; CHARNLEY, A. K. 1999. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insects. *J. Invertebr. Pathol.*, 74: 213-223.
- LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; BUTT T. M.; PEBERDY, J. F.; BERTIOLLI, D. J. 2000. Genetic exchange in *Metarhizium anisopliae* strains co-infecting *Phaedon cochleariae* is revealed by molecular markers. *Mycol. Res.*, 104: 409 - 414
- LOMER, C. J.; BATEMAN, R. P.; JOHNSON, D. L.; LANGEWALD, J.; THOMAS, M. B. 2001. Biological control of locusts and grasshoppers. *Annu. Rev. Entomol.*, 46: 667-702
- MAURER, P.; COUTEAUDIER, P.; GIRARD, A.; BRIDGE, P. D.; RIBA, G. 1997. Genetic diversity of *Beauveria bassiana* and relatedness to host insect range. *Mycological Research*, 101:159-164.
- MCCOY, C. W.; SAMSON, R. A.; BOUCIAS, D. G. 1988. Entomogenous fungi, *In: CRC Handbook of natural pesticides*. Vol. 5 Microbial insecticides. Part A: Entomogenous Protozoa and Fungi, C. Ignoffo; N. B. Mandava (eds.), CRC Press, Boca Raton, CRC, p. 151-236.
- MILNER, R. J. 1997. Prospect for biopesticides for aphid control. *Entomophaga*, 42: 227 - 239
- MILNER, R. J.; HUNTER, D. M. 2001. Recent developments in the use of fungi as biopesticides against locusts and grasshoppers in Australia. *Journal of Orthoptera Research*, 10 (2): 271-276.
- MILNER, R. J.; LUTTON, G. G. 1976. *Metarhizium anisopliae*: survival of conidia in the soil, in *Proceedings of the 6th International Colloquium of Invertebrate Pathology*. p 428-429.
- MOLLER, A. P. 1993. A fungus infecting domestic flies manipulates sexual behaviour of its host. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 33 (6): 403-407.
- MOORE, D.; REED, M. L. E.; PATOUREL, G.; ABRAHAM, Y. J.; PRIOR, C. 1992. Reduction of feeding by the desert locust, *Schistocerca gregaria*, after infection with *Metarhizium flavoviride*. *J. Invertebr. Pathol.*, 60 (3): 304-307.

- MOORE, D.; PRIOR, C. 1988. Present status of biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. Proc. Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases, 3: 1119-1124.
- MULLENS, B. A.; RODRIGUEZ, J. L. 1985. Dynamics of *Entomophthora muscae* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) conidial discharge from *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) cadavers. Environmental Entomology, 14 (33): 317-322.
- NOYD, R. K. 2000. Mycology reference cards. St. Paul, Mn: The American Phytopathological Society. APS Press.
- PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; AZEVEDO, J. L. 1991. Parasexuality in *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol., 57: (2): 172-176.
- PAPIEROK, B. 2007. Isolating growing and storing arthropod - pathogenic Entomophthorales. In: Arthropod-pathogenic Entomophthorales: Biology, Ecology, Identification. Ed., Siefried Keller. COST Action, 842 p.
- PEREIRA, R. M.; STIMAC, J. L.; ALVES, S. B. 1993. Soil antagonism affecting the dose - response of workers of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* to *Beauveria bassiana* conidia. J. Invertebr. Pathol., 61 (2): 156-161.
- PUTERKA, G. J. 1999. Fungal pathogens for arthropod pest control in orchard systems: mycoinsecticidal approach for pear psylla control. Biocontrol 44: (2): 183-209.
- REHNER, S. A.; POSADA, F. J.; BUCKLEY E. P.; INFANTE, F.; CASTILLO A.; VEGA, F. E. 2006. Phylogenetic origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. J. Invertebr. Pathol., 93 (1): 11-21.
- ROBERTS, D. W. 1969. Toxins from the entomogenous fungus *Metarhizium anisoplaie*: Isolation from submerged cultures. J. Invertebr. Pathol., 14 82-88.
- RODRÍGUEZ, M. L.; GÓNGORA, C. E. 2005. Transformación de *Beauveria bassiana* cepa Bb9205 con los genes pr1A, pr1J y ste1 de *Metarhizium anisoplaie* y evaluación de su patogenicidad sobre la broca del café. Revista Colombiana de Entomología, 31: 51-58.
- ROSSET, P.; MOORE, M. 1998. La seguridad alimentaria y la producción local de biopesticidas en Cuba. Boletín del ILEIA, Junio, p. 18-19.
- ROY, H. E.; STEINKRAUS, D. C.; EILENBERG, J.; HAJEK, A. E.; PELL, J. K. 2006. Bizarre interactions and endgames: Entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. Annual Review of Entomology, 51: 331-357.
- SHAH, P. A.; GOETTEL, M. S. 1999. Directory of microbial control products and services. Society for Invertebrate Pathology, Gainesville, Florida. 23 p.
- SHAH, P. A.; PELL, J. K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. Appl. Microbiol. Biotechnol., 61: 413 - 423.
- SHAPIRO-ILAN, D. I.; FUXA, J. R.; LACEY, L. A.; ONSTAD, D. W.; KAYA, H. K. 2005. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. J. Invertebr. Pathol., 88 (1): 1-7.
- SMITH, R. J.; GRULA, E. A. 1981. Nutritional requirements for conidia germination and hiphal growth of *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol., 37: 222 - 230.
- SOPER, R. S.; HOLBROOK, F. R.; MAJCHROWICZ, Y.; GORDON, C. C. 1975. Production of *Entomophthora* resting spores for biological control of aphids. Life Sci. Agric. Exp. Stn., Tech. Bull. Univ. Maine, 76, p. 1-15.
- STEINHAUS, E. 1975. Enfermedades microbianas de los insectos. In: P. De Bach, editor, Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. México: Compañía Editorial Continental, p. 607-645.
- STEINKRAUS, D. C.; HOLLINGSWORTH, R. G.; BOYS, G. O. 1996. Aerial spores of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales: Neozygitaceae): density, periodicity, and potential role in cotton aphid (Homoptera: Aphididae) epizootics. Environ. Entomol., 25: 48-57.

- STEINKRAUS, D. C.; GEDEN, C. J.; RUTZ, D. A. 1993. Prevalence of *Entomophthora muscae* (Cohn) Fresenius (Zygomycetes: Entomophthoraceae) in house flies (Diptera: Muscidae) on dairy farms in New York and induction of epizootics. *Biol Control*, 3: 93-100.
- ST. LEGER, R. J. 1991. Integument as a barrier to microbial infection. *In: The physiology of insect epidermis*. Eds., A. Retnakaran, K Binnington. Australia CSIRO, p. 286-308.
- ST. LEGER, R. J.; FRANK, D. C.; ROBERTS, D. W.; STAPLES, R. C. 1992. Molecular cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading protease structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Eur. J. Biochem.*, 204: 991-1001.
- ST. LEGER, R. J.; ALLEE, L. L.; MAY, B.; STAPLES, R. C.; ROBERTS, D. W. 1992 b. World-wide distribution of genetic variation among isolates of *Beauveria* spp. *Mycological research*, 96: 1007-1015.
- ST. LEGER, R. J.; JOSHI, L.; BIDOCHKA, M. J.; ROBERTS, D. W. 1996. Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. *Proc. National Acad. of Science*, 93: 6349-6354.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. 1993. Fungal infection. *In: Insect pathology*, chapter 10, Eds. Y. Tanada y H. K. Kaya. Academic press, p. 318-366.
- TIGANO-MILANI, M. S.; HONEYCUTT, R. J.; LACEY, L. A.; ASSIS, R.; Mc LELLAND, M.; SOBRAL, B. W. S. 1995. Genetic variability of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates revealed by molecular markers. *J. Invertebr. Pathol.*, 65: 274-282.
- VIAUD, M.; COUTEAUDIER, Y.; LEVIS, C.; RIBA, G. 1996. Genome organization in *Beauveria bassiana*: Electrophoretic karyotype, gene mapping, and telomeric fingerprint. *Fungal Genetics and Biology*, 20: (3): 175-183.
- VÉLEZ, P.; BENAVIDES G., M. 1990. Registro e identificación de *Beauveria bassiana* en Ancuya, Nariño, Colombia. *Revista Cenicafe*, 41: 50-57.
- VÉLEZ, P. A.; POSADA, F. J.; MARÍN, P.; GONZÁLEZ, M. T.; OSORIO, E.; BUSTILLO, A. E. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Cenicafe*, Chinchiná, Colombia. *Boletín Técnico* No. 17, 37p.
- WANG, C. S.; LI, Z.; BUTT, T. M. 2002. Molecular studies of co-formulated strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *J. Invertebr. Pathol.*, 80: 29-34.
- WANG, C. S.; FAN, M.; LI, Z.; BUTT, T. M. 2004. Molecular monitoring and evaluation of the application of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* in southeast China. *J. Appl. Microbiol.*, 96: 861-870.
- WANG, C.; ST LEGER, R. J. 2006 A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 103: 6647-6652
- WATSON, D. W.; MULLENS, B. A.; PETERSEN, J. J. 1993. Behavioral fever response of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to infection by *Entomophthora muscae* (Zygomycetes: Entomophthorales). *J. Invertebr. Pathol.*, 61:10-16.
- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In: Innis, M. A., Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J.; White, T. J. eds. PCR protocols: A guide to methods and applications*. San Diego, Academic Press. p. 315-322.
- WRAIGHT, S. P.; JACKSON, M. A.; LOCK, S. L. 2001. Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. *In: Butt, T. M.; Jackson, C.; Magan, N. (eds.), Fungi as biological control agents: Progress, Problems and Potential*. CABI Publishing.Wallingford, p. 253-287
- WOESE, C. R.; KANDLER, O. Y.; WHEELIS, M. L. 1990. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proc. Nat. Academy of Sciences*, 8: 4576-4579.
- ZARE, R.; GAMS, W.; CULHAM, A. 2000. A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata* I. Phylogenetic studies using ITS sequences. *Nova Hedwigia*, 71: 465-480.



CAPÍTULO 10

Nematodos para el control de insectos plagas

Juan Carlos López Núñez

El uso de organismos patógenos de insectos como bacterias, virus, hongos y nematodos, en la lucha contra insectos plagas y transmisores de enfermedades, ha recibido considerable atención desde la década de los cuarenta. Fenómenos como la marcada resistencia a los insecticidas, el impacto de los agroquímicos sobre el ambiente, la fauna benéfica y la salud humana, entre otros, han logrado la concientización en ámbitos tanto populares, científicos y comerciales, sobre la urgente necesidad de buscar nuevas alternativas en el control de insectos perjudiciales.

La atención sobre los nematodos parásitos de insectos se ha incrementado en las dos últimas décadas, ya que resultados de miles de investigaciones en el mundo, los presentan como agentes promisorios para el control de insectos, moluscos, nematodos de plantas y algunos patógenos de plantas que se encuentran en el suelo. Adicionalmente, los estudios han demostrado que estos organismos poseen características como: gran capacidad de adaptación a nuevos ambientes y a condiciones adversas, resistencia a productos químicos, alta especificidad por insectos, inocuidad al medio ambiente y mamíferos y compatibilidad con otros entomopatógenos, las cuales resaltan su importancia en programas de manejo integrado de plagas. Todo lo anterior, ha llevado a que el uso de estos nematodos se haya desarrollado como una disciplina de la patología de insectos conocida como Entomonematología.

Los ejemplos prácticos del uso de nematodos para el control de insectos que alguna vez se consideraban imposibles de controlar, principalmente en Europa, Estados Unidos, Japón, China y Australia, unido a los desarrollos de métodos de producción masiva y la excepción de requerimientos para registro, han sido las principales razones por las que se ha incrementado su importancia como agentes de control biológico e interés en el campo comercial.

Generalidades

Después del Phylum Artropoda, el Nematoda (= Nemata) es uno de los más diversos y versátiles del Reino Animal, con un número estimado de más de 100.000 especies (Coomans, 2000; De Ley, 2000). Se les conoce como "gusanos" y si bien, su morfología parece simple, han logrado colonizar los medios más diversos y variados como tundras, desiertos, ambientes marinos y de agua dulce, o aguas termales y aguas congeladas (Stock, 1998). La distribución de este Phylum en la cadena trófica es amplia, se incluyen nematodos comedores de bacterias, algas, hongos, materia en descomposición, parásitos de plantas, invertebrados, vertebrados e insectos (Blaxter et al., 1998). Erróneamente se les considera animales dañinos que atacan al hombre, animales y plantas, y que provocan, según el caso, enfermedades parasitarias severas o causan pérdidas de rendimiento en cultivos. Sin embargo, los nematodos que parasitan insectos por sus características bioecológicas, se constituyen en alternativas interesantes para el control de plagas.

Asociaciones insecto – nematodos

Registros recientes de fósiles preservados en ámbar, de hace 30 a 185 millones de años aproximadamente, evidencian asociaciones parasíticas entre hormigas y moscas con nematodos parásitos de invertebrados (mermitidos) (Poinar *et al.*, 2006; Poinar y Buckley, 2006). No obstante, algunos van más allá y ubican estas asociaciones desde el período Cambriano (Taylor, 1935). Según Poinar, citado por Stock y Hunt (2005), el parasitismo en invertebrados se presentó en cuatro grupos principales de nematodos, de los cuales el grupo más primitivo (Rhabditida) dio lugar a los miembros de Oxyurida (~420 millones de años), al igual que los steinernematidos y heterorhabditidos (~475 millones de años). Además, se especula que las similitudes morfológicas y de ciclo de vida, fueron el resultado de evolución convergente.

Actualmente, más de 30 familias de nematodos, se registran con algún grado de asociación a insectos (Kaya *et al.*, 1993; Tanada y Kaya, 1993; Stock y Hunt, 2005), y estas asociaciones van desde relaciones “casuales” (por ejemplo: forética, comensal), hasta parasíticas ya sea facultativa u obligada. De acuerdo con su relación, los nematodos son nombrados de igual manera como: nematodos entomófilos (NEF) (algunas veces llamados entomonematodos), nematodos entomoparásitos o parásitos de invertebrados (PI), y nematodos entomopatógenos (NEP). Su acción sobre insectos es diversa; algunos tienen poco o ningún efecto en sus anfitriones, otros reducen la fecundidad, longevidad y actividad de vuelo, mientras que otros causan esterilidad y retrasan el desarrollo. Además, pueden ocasionar aberraciones morfológicas, fisiológicas y de comportamiento, aparición de íntersexos y/o la muerte. Finalmente, la última relación que guardan los nematodos sobre los cuales se hace énfasis en este capítulo, es en la que el nematodo debe matar al insecto para asegurar su sobrevivencia (Gordon y Webster, 1974; Kaya *et al.*, 1993; Tanada y Kaya, 1993).

Al tener en cuenta el reciente esquema de clasificación, de acuerdo con la evolución del parasitismo en invertebrados de De Ley y Blaxter (2002), se consideran promisorias ocho familias para el control biológico de insectos.

A la Clase Enoplea, Inglis 1983, (orden Mermithida Hyman, 1951), pertenecen las familias Tetradonematidae Cobb, 1919, y Mermithidae Braun, 1883 (PI), cuyas especies son parásitos obligados de artrópodos terrestres y acuáticos. Estos nematodos parasitan insectos de los órdenes Dermaptera, Lepidoptera, Orthoptera, Diptera, Hemiptera, Coleoptera e Hymenoptera (Waerebeke y Remillet, 1973; Peloquin y Platzer, 1993; Platzer, *et al.*, 2005). Uno de los ejemplos más conocidos es *Romanermis culicivora* (= *Reesimermis nielsenii*) para el control de culícidos. Investigaciones realizadas durante la década de los setenta, contribuyeron al conocimiento sobre la biología, ecología y etología, lo que en su momento fue de gran importancia para el control de larvas de mosquitos (Kaya *et al.*, 1993; Smits, 1997). Sin embargo, dificultades para su producción masiva y su variable eficacia en el campo, disminuyeron el interés en su uso. A finales de la década de los ochenta y comienzos de los noventa, la especie *Agamermis unka*, se incorporó como agente de control para una de las mayores plagas del cultivo de arroz en Asia, *Nilaparvata lugens* (Stal) (Delphacidae) (Choo y Kaya, 1993). En Colombia y Venezuela se registró la especie *Hexamermis dactylocercus*, afectando naturalmente ninfas del “salivazo o mión de los pastos”, *Aenolamia varia* (Fab.) (Cercopidae), insecto que afecta cultivos como pasto, arroz, maíz, caña de azúcar y sorgo, entre otros (ICA, 1980; Poinar y Linares, 1985). Para moluscos del género *Veronicella* sp., causante del anillado del tallo del cafeto, se registró en Colombia el parasitismo natural por una especie no descrita de *Hexamermis* (Posada *et al.*, 2001).

Las otras seis familias, se agrupan en la clase Chromadorea (orden Rhabditida Chitwood, 1933), éstas son:

Allantonematidae Pereira, 1931 (NEF). Las especies de esta familia se registran parasitando principalmente insectos de los órdenes Coleoptera, Diptera y Thysanoptera (Beeding, 1993; Hominick y Collins, 1997; Zeng *et al.*, 2007). Especies de *Thripinema*, se han estudiado recientemente como importantes controladores de insectos de los géneros *Thrips* y *Frankliniella*, principalmente en cultivos de flores en invernadero y en el campo. *T. niclewoodi* ha sido la principal especie estudiada como enemigo natural de *Frankliniella occidentalis*, con altos niveles de parasitismo en el campo, sin embargo su efecto en la dinámica de la población del insecto en el campo no ha sido estudiada de manera adecuada (Funderburk y Latsha, 2005).

Neotylenchidae Thorne, 1941 (NEF). Las especies de esta familia parasitan insectos del orden Hymenoptera. Uno de los más importantes ejemplos de control implementado desde el inicio de la década de los setenta, se tiene con el nematodo *Beddingia* (= *Deladenus*) *siricidicola*, que es reconocido como el principal y exitoso agente de control de *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae), una de las mayores plagas de *Pinus radiata*, *P. taeda*, *P. elliottii* y *P. patula*, en Australia, Europa y en Sur América (Bedding, 1993; Hominick y Collins, 1997; Bedding y Lede, 2005). Sin embargo, la dificultad para realizar monitoreos con el fin de evaluar la acción del parásito por el largo ciclo de vida de la plaga (Tanada y Kaya, 1993), la pérdida de infectividad por su dificultad de mantenerlo en el laboratorio y el cambio de la cepa del nematodo que se utiliza para las aplicaciones en el campo, son algunas de las condiciones que limitan su acción (Bedding y Lede, 2005). Junto a estas familias, y de acuerdo con la clasificación propuesta por Siddiqui (2000), se relaciona de la familia **Sphaerularidae Lubbock, 1861 (PI)**, a la especie *Sphaerularia bombi*, parasitando principalmente insectos de los órdenes Hymenoptera e Isoptera.

Aphelenchidae Fuchs, 1937 (NEF). Aunque las especies de esta familia se han estudiado principalmente como controladores biológicos de hongos fitoparásitos, se reconocen las especies *Acugutturus parasiticus* y *Noctuidonema guyanense* como ectoparásitos de cucarachas (Blattidae) y de algunos lepidópteros de la familia Noctuidae, respectivamente (Rogers et al., 1993).

Las especies de la familia **Steinernematidae Travassos, 1927 (NEP)**, se han encontrado parasitando insectos de los órdenes Diptera, Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera y Orthoptera. La familia **Heterorhabditidae Poinar 1975 (NEP)**, cuyas especies parasitan principalmente insectos de los órdenes Lepidoptera y Coleoptera (Kard et al., 1988; Peters, 1996; Stock, 1998), actualmente tienen el mayor interés en el control de insectos plaga, debido a que su multiplicación y dispersión no se limita por la relación dependiente entre nematodo-insecto, como sí ocurre con especies de otras familias (Lacey et al., 2001). En Colombia, en el Centro Nacional de Investigaciones de Café-Cenicafé se han realizado investigaciones orientadas a evaluar el uso potencial de especies de estas dos familias sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Así mismo, Cenicafe en asocio con otros Centros de Investigación y Universidades del país, han desarrollado estudios sobre insectos plaga de importancia económica en otros cultivos agrícolas (López 2002, 2005).

En términos generales y con base en el tiempo transcurrido desde la infección por la mínima unidad infectiva y el establecimiento del nematodo en su anfitrión hasta su muerte, en la Figura 10.1 se presenta el ciclo de

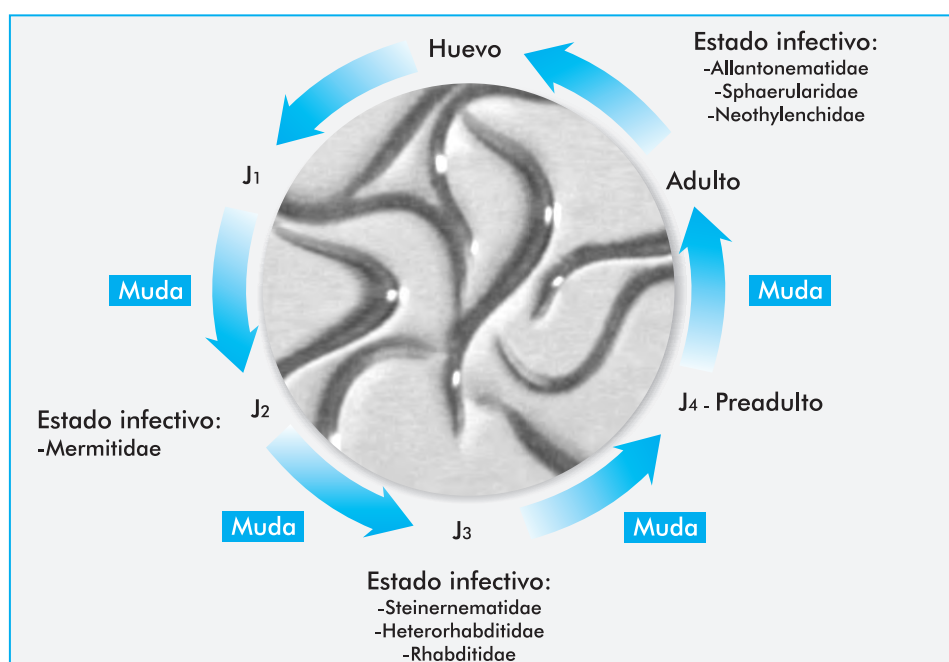


Figura 10.1. Ciclo de vida general y estados infectivos de las familias de nematodos con potencial para el control de insectos.

vida general de las familias promisorias en el control biológico de insectos, se distinguen principalmente dos tipos de situaciones: en un caso, la muerte sobreviene a las pocas horas de padecida la infección (Ejemplo: NEP), en el otro caso el insecto muere después que el nematodo lo abandona. Esto ocurre luego de cumplir su fase parasítica al interior del huésped (Ejemplo: PI y algunos NEF).

El potencial de los nematodos como biocontroladores, no se restringe solamente a insectos. En los últimos años, un parásito de invertebrados (PI) de la familia Rhabditidae Örley, 1880 (*Phasmarhabditis hermafrodita* (Schneider)), se utilizó para desarrollar un molusquicida, que ha tenido éxito comercial para el control de babosas y caracoles (Wilson *et al.*, 1993; Hass *et al.*, 1999 a, b; Charwat *et al.*, 2000; Grewal *et al.*, 2001). Recientemente dentro de la familia Rhabditidae se ha registrado el nuevo género *Heterorhabditoides*, cuya única especie *H. chongmingensis*, aislada de muestras de suelo, ha sido ubicada dentro del grupo de los NEP (Zhang *et al.*, 2008). Otras especies de las familias Diplogasteridae Micoletzky, 1922, Mononchidae Chitwood, 1937, y Nygolaimidae Thorne, 1935, en general nematodos predadores, fungívoros y bacterióvoros, como *Aphelenchus avenae* Bastian, y especies de los géneros *Butlerius* y *Fictor*, se han estudiado como controladores biológicos de nematodos parásitos de plantas y algunos hongos fitopatógenos (Grewal *et al.*, 1997; Lootsma y Scholte, 1997; Bilgrami y Brey, 2005).

Familias Steinernematidae y Heterorhabditidae

Estudios moleculares de la región ribosomal 18S del ADN, en donde los arreglos filogenéticos demuestran la independencia de orígenes para estas dos familias, soportan las hipótesis hechas por Poinar en cuanto a su origen evolutivo (Blaxter *et al.*, 1998). Las especies de estas dos familias son altamente virulentas sobre insectos considerados plaga (más de 200 especies) en diferentes cultivos, no representan riesgo alguno para la salud humana, medio ambiente o plantas, y por ser el suelo su hábitat natural, presentan ventajas de adaptación sobre otros nematodos parásitos de insectos. Adicionalmente, los novedosos avances, durante los últimos 15 años, en los sistemas de producción masiva aseguran el suministro de estos agentes de control (Poinar, 1990; Capinera y Epsky, 1992; Ehlers y Shapiro-Ilan, 2005). Algunos ejemplos exitosos de aplicaciones de especies de estos nematodos para el control de insectos en el campo e invernadero se resumen en la Tabla 10.1.

Tabla 10.1. Ejemplos de la aplicación de especies de *Steinernema* y *Heterorhabditis* sobre insectos.

Insecto	Orden	Nematodo	Referencia
<i>Anomala orientalis</i>	Coleoptera	<i>H. bacteriophora</i> , <i>S. scarabaei</i> , <i>Heterorhabditis</i> sp., <i>S. glaseri</i> , <i>S. carpocapsae</i> , <i>S. longicaudum</i>	Lee <i>et al.</i> , 2002; Koppenhöfer y Fuzy, 2003a; Koppenhöfer y Fuzy, 2003b
<i>Cyclocephala borealis</i>	Coleoptera	<i>H. bacteriophora</i> , <i>H. zealandica</i> <i>S. kraussei</i> , <i>S. scarabaei</i>	Koppenhöfer y Fuzy, 2003a; Grewal <i>et al.</i> , 2004
<i>Phyllopertha horticola</i>	Coleoptera	<i>H. bacteriophora</i>	Sulistyanto y Ehlers, 1996
<i>Phyllophaga</i> spp. (<i>anxia</i> , <i>fusca</i> , <i>comes</i>)	Coleoptera	<i>H. bacteriophora</i> , <i>S. carpocapsae</i>	Kard <i>et al.</i> , 1988
<i>Popillia japonica</i>	Coleoptera	<i>H. bacteriophora</i> , <i>H. zealandica</i> , <i>S. glaseri</i> , <i>S. carpocapsae</i> , <i>S. kushidai</i> , <i>S. scarabaei</i> , <i>S. arenarium</i>	Georgis y Gaugler, 1991; Alm <i>et al.</i> , 1992; Selvan <i>et al.</i> , 1994 ; Koppenhöfer <i>et al.</i> , 2000 ; Koppenhöfer y Fuzy, 2003a; Grewal <i>et al.</i> , 2004

<i>Rhizotrogus majalis</i>	Coleoptera	<i>H. bacteriophora</i> , <i>S. scarabaei</i>	Cappaert y Koppenhöfer, 2003
<i>Otiorhynchus sulcatus</i>	Coleoptera	<i>H. megidis</i> , <i>H. bacteriophora</i> , <i>S. feltiae</i> , <i>S. carpocapsae</i>	Georgis y Poinar, 1984; Lola-Luz et al., 2005; Kakouli et al., 1997; Beeding y Miller, 1981
<i>Bradysia</i> spp.	Diptera	<i>S. carpocapsae</i> , <i>S. feltiae</i>	Harris et al., 1995; Jagdale et al., 2004 ; Kim et al., 2004
<i>Liriomyza</i> spp.	Diptera	<i>S. feltiae</i>	Williams y MacDonald, 1995
<i>Scatella stagnalis</i>	Diptera	<i>S. arenarium</i> , <i>S. feltiae</i>	Morton y García del Pino, 2007
<i>Frankliniella occidentalis</i>	Thysanoptera	<i>S. feltiae</i> , <i>S. abassi</i> , <i>S. bicornutum</i> , <i>S. arenarium</i> , <i>S. feltiae</i> , <i>Heterorhabditis</i> sp, <i>H. indica</i>	Ebbsa et al., 2001 a; 2001 b; 2004
<i>Scolytus scolytus</i>	Coleoptera	<i>S. carpocapsae</i>	Finney y Walter, 1979
<i>Altica quercetorum</i>	Coleoptera	<i>S. feltiae</i> , <i>H. bacteriophora</i>	Tomalak, 2004
<i>Xanthogaleruca luteola</i>	Coleoptera	<i>S. carpocapsae</i>	Kaya et al., 1981
<i>Holcerus insularis</i>	Lepidoptera	<i>S. feltiae</i>	Qin et al., 1988
<i>Macronoctua onusta</i>	Lepidoptera	<i>H. bacteriophora</i> , <i>S. carpocapsae</i>	Gill y Raupp, 1997
<i>Paranthrene robiniae</i>	Lepidoptera	<i>S. carpocapsae</i>	Kaya y Lindergren, 1983
<i>Podosecia aureocincta</i>	Lepidoptera	<i>S. carpocapsae</i> , <i>S. feltiae</i> , <i>S. glaserie</i>	Smith-Fiola et al., 1996.
<i>Synanthedon</i> spp. (<i>culiciformis</i> , <i>exitosa</i> , <i>resplendens</i> , <i>scitula</i>)	Lepidoptera	<i>S. feltiae</i> , <i>S. carpocapsae</i>	Kaya y Brown, 1986; Gill et al., 1992; Davidson et al., 1992; Gill et al., 1992
<i>Choristoneura occidentalis</i>	Lepidoptera	<i>S. carpocapsae</i>	Kaya y Reardon, 1982; Kaya et al., 1981
<i>Cephalacia lariciphila</i>	Hymenoptera	<i>S. feltiae</i>	Georgis y Hague, 1988
<i>Diaprepes abbreviatus</i>	Coleoptera	<i>H. bacteriophora</i> , <i>S. carpocapsae</i> , <i>S. riobrave</i>	Downing et al., 1991, Duncan et al., 1996, McCoy et al., 2000; 2002
<i>Cosmopolites sordidus</i>	Coleoptera	<i>S. carpocapsae</i>	Treverow et al., 1991

Posición taxonómica y ciclo de vida

Las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, pertenecen al Orden Rhabditida, Clase Secernentea. La familia Steinernematidae Chitwood y Chitwood, 1937, está conformada por dos géneros: *Steinernema* Travassos, 1927, y *Neosteinerema* Nguyen y Smart, 1994 (Tanada y Kaya, 1993; Kaya y Stock, 1997; Stock y Hunt, 2005). Las especies descritas para cada género se relacionan en las Tablas 10.2 y 10.3, donde se incluye la primera y la nueva especie aislada y descrita para Colombia *Steinernema colombiense* (López et al., 2008). La Familia Heterorhabditidae consta de un género: *Heterorhabditis* Poinar 1976.

En Colombia, la información sobre la presencia de especies nativas de *Steinernema* es escasa. En 1998, la especie *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 cepa Villapinzón, se reportó aislada de muestras de suelo de la Sabana de Bogotá (Sáenz, 1998). En otros estudios, diferentes especies de *Steinernema* se registraron aisladas en los departamentos de Cundinamarca y Boyacá (Parada, 2006) y recientemente, se reportó en el

Valle del Cauca a *S. kraussei* Steiner, 1923 (CIAT 2003; Melo et al, 2004; Melo et al, 2006). Sin embargo, para identificar completa y correctamente estas especies se requiere de exámenes taxonómicos más detallados. Resultados de trabajos recientes realizados por la Federación Nacional de Cafeteros en cabeza de Cenicafé, han mostrado evidencia de la diversidad de estas especies en la zona cafetera central y su uso potencial en programas de control biológico de insectos plaga en la agricultura colombiana (López et al., 2008). En cuanto al género *Heterorhabditis*, solamente se tienen dos registros de *H. bacteriophora* Poinar, 1976, nativos; uno en el Valle del Cauca asociado con la “chinche de la yuca”, *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae) (Caicedo y Bellotti, 1996), y otro aislado de suelo cultivado con café en Fresno, Tolima¹. En el mismo estudio de biodiversidad de steinernematidos y heterorhabditidos en zona cafetera, se reportó el hallazgo de dos nuevas especies de *Heterorhabditis* para la ciencia (López et al., 2007). En el resto de países Suramericanos son muy pocos los trabajos realizados enfocados en estudiar la diversidad de estos NEP (Stock, 1995; Aguilera, 2002; Leite et al., 2005).

Tabla 10.2. Resumen taxonómico de la familia Steinernematidae. Chitwood y Shitwood, 1937 Syn, Neoplectanidae Sobolev, 1953 (modificado y actualizado de Stock y Hunt 2005).

Taxa	Continente (País de aislamiento)
Género tipo: Steinernema Travassos, 1927	
Especie tipo: <i>Steinernema kraussei</i> (Steiner, 1923) Travassos, 1927	Europa (Alemania), Norte América
Otras especies:	
<i>S. abbasii</i> Elawad, Ahmad and Reid, 1997	Asia (Omán)
<i>S. aciari</i> Qiu, Yan, Zhou, Nguyen y Pang. 2005	Asia – China
<i>S. affine</i> (= <i>affinis</i>) (Bovien, 1937) Wouts, Mráček, Gerdin y Bedding, 1982	Europa (Dinamarca)
<i>S. akhursti</i> Qiu, Hu, Zhou, Mei, Nguyen y Pang, 2005	Asia (China)
<i>S. anatoliense</i> Hazir, Stock y Keskin, 2003	Asia (Turquía)
<i>S. apuliae</i> Triggiani, Mráček, y Reid, 2004	Europa (Italia)
<i>S. arenarium</i> (= <i>anomala</i> = <i>anomali</i>) (Artyukhovsky, 1967) Wouts, Mráček, Gerdin y Bedding, 1982	Asia (Rusia Central)
<i>S. ashiuense</i> Phan, Takemoto y Futai, 2006	Asia (Japón)
<i>S. asiaticum</i> Anis, Shahina, Reid y Rowe 2002	Asia (Pakistán)
<i>S. backanense</i> Phan, Spiridonov, Subbotin y Moens, 2006	Asia (Vietnam)
<i>S. beddingi</i> Qiu, Hu, Zhou, Pang y Nguyen, 2005	Asia (China)
<i>S. bicornutum</i> Tallosi, Peters y Ehlers, 1995	Europa (Yugoslavia)
<i>S. carpocapsae</i> (Weiser, 1955) Wouts, Mráček, Gerdin y Bedding, 1982	Asia, Europa (Checoslovaquia), Norte América, Sur América
<i>S. caudatum</i> Xu, Wang y Li, 1991	Asia (China)
<i>S. ceratophorum</i> Jian, Reid y Hunt, 1997	Asia (China)
<i>S. colombiense</i> López, Plichta, Góngora y Stock, 2008.	Sur América (Colombia)
<i>S. costaricense</i> Uribe, Mora y Stock, 2007	Centro América (Costa Rica)
<i>S. cubanum</i> (= <i>cubana</i>) Mráček, Hernández y Boemare, 1994	Centro América - Caribe (Cuba)
<i>S. cumgareense</i> Phan, Spiridonov, Subbotin y Moens, 2006	Asia (Vietnam)

...Continúa

¹ LÓPEZ N., J.C. 2007. Informe Anual de Actividades. Disciplina de Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café. Cenicafé. Chinchiná, Caldas (Colombia).

Continuación...

<i>S. cholashanense</i> Nguyen, Půža y Mráček, 2007	Asia (China)
<i>S. diaprepesi</i> Nguyen y Duncan, 2002	Norte América (USA)
<i>S. feltiae</i> (Filipjev, 1934) Wouts, Mráček, Gerdin y Bedding, 1982	Norte América (USA), Europa (Dinamarca), Norte América, Sur América
<i>S. glaseri</i> (Steiner, 1929) Wouts, Mráček, Gerdin y Bedding, 1982	Asia, Europa, Norte América (USA), Sur América
<i>S. guandongense</i> Qiu, Fang, Zhou, Pang y Nguyen, 2004	Asia - China
<i>S. hebeiense</i> Chen, Li, Yan, Spiridonov y Moens, 2006	Asia (China)
<i>S. hermaphroditum</i> Stock, Griffin y Chaenari, 2004	Asia (Indonesia)
<i>S. ichnusae</i> Tarasco, Mráček, Nguyen y Triggiani, In press	Europa (Italia)
<i>S. intermedium</i> (=intermedia) (Poinar, 1985) Mamiya, 1988	Norte América (USA), Europa
<i>S. jolietti</i> Spiridonov, Krasomil-Osterfeld y Moens, 2004	Norte América (USA)
<i>S. karii</i> Waturu, Hunt y Reid, 1997	África (Kenia)
<i>S. khoisanse</i> Nguyen, Malan y Gozel, 2006	África (Sur África)
<i>S. kushidai</i> Mamiya, 1988	Asia (Japón)
<i>S. leizhouense</i> Nguyen, Qiu, Zhou y Pang, 2006	Asia (China)
<i>S. litorale</i> Yoshida, 2004	Asia (Japón)
<i>S. loci</i> Phan, Nguyen y Moens, 2001	Asia (Vietnam)
<i>S. longicaudum</i> Shen y Wang, 1992 (=serratum) ²	Asia (China), Norte América
<i>S. monticolum</i> Stock, Choo y Kaya, 1997	Asia (Corea)
<i>S. neocurtillae</i> (=neocurtillis) Nguyen y Smart, 1992	Norte América (USA)
<i>S. oregonense</i> (=oregonensis) Liu y Berry, 1996	Norte América (USA)
<i>S. pakistanense</i> Shahina, Anis, Reid, Rowe y Maqbool, 2001	Asia (Pakistán)
<i>S. puntauense</i> Uribe, Mora y Stock, 2007	Centro América (Costa Rica)
<i>S. puertoricense</i> (=puertoricensis) Román y Figueroa, 1994	Centro América (Puerto Rico)
<i>S. rarum</i> (=rara) (de Doucet, 1986) Mamiya, 1988	Sur América (Argentina), Norte América (USA)
<i>S. riobrave</i> (=riobravis) Cabanillas, Poinar y Raulston, 1994	Norte América (USA)
<i>S. ritteri</i> de Doucet y Doucet, 1990	Sur América (Argentina)
<i>S. robustispiculum</i> Phan, Subbotin, Waeyenberge y Moens 2005	Asia (Vietnam)
<i>S. sasonense</i> Phan, Spiridonov, Subbotin y Moens, 2006	Asia (Vietnam)
<i>S. sangi</i> Phan, Nguyen y Moens, 2001	Asia (Vietnam)
<i>S. scapterisci</i> Nguyen y Smart, 1990	Sur América (Uruguay)
<i>S. scarabaei</i> Stock y Koppenhöfer, 2003	Norte América (USA)
<i>S. siamkayai</i> Stock, Somsook y Kaya, 1998	Asia (Tailandia)
<i>S. sichuanense</i> Mráček, Nguyen, Tailliez, Boemare, Chen, 2006.	Asia (China)
<i>S. silvaticum</i> Sturhan, Spiridonov, Mráček, 2005	Europa (Alemania, República Checa, Bélgica, Holanda, Suiza, Inglaterra)

² STOCK, P. Comunicación personal. Septiembre de 2008.

...Continúa

Continuación...

<i>S. tami</i> Van Luc, Nguyen, Spiridonov y Reid, 2000	Asia (Vietnam)
<i>S. texanum</i> Nguyen, Stuart, Andalo, Gozel, 2007	Norte América (Estados Unidos)
<i>S. thanh</i> Phan, Nguyen y Moens, 2001	Asia (Vietnam)
<i>S. thermophilum</i> Ganguly y Singh, 2000	Asia (India)
<i>S. websteri</i> Cutler y Stock, 2003	Asia (China)
<i>S. weiseri</i> Mráček, Sturhan y Reid, 2003	Europa (Alemania)
<i>S. yirgalemense</i> Nguyen, Tesfamariam, Gozel, Gaugler y Adams, 2004	África (Etiopía)
Género: <i>Neosteinerinema</i> Nguyen y Smart, 1994	
Solo especie tipo:	
<i>Neosteinerinema longicurvicauda</i> Nguyen y Smart, 1994	Norte América (USA)

Tabla 10.3. Resumen taxonómico de la familia Heterorhabditidae (modificado y actualizado de Stock y Hunt 2005).

Taxa	Continente (País de aislamiento)
Género tipo: <i>Heterorhabditis</i> Poinar, 1976	
Especie tipo: <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Poinar, 1976. Syn. <i>Chromonema heliothidis</i> Khan, Brooks y Hirschmann, 1976. <i>H. heliothidis</i> (Khan, Brookas y Hirschmann, 1976) Poinar, Thomas y Hess, 1977. <i>H. argentinensis</i> Stock, 1993	África, Asia, Australia, América Central, Europa, Norte América (USA), Sur América.
Otras especies:	
<i>H. amazoniensis</i> Andaló, Nguyen, Moino, 2006.	Sur América (Brasil)
<i>H. baujardi</i> Phan, Subbotin, Nguyen y Moens 2003	Asia (Vietnam)
<i>H. brevicaudis</i> Liu, 1994	Asia (China)
<i>H. downesi</i> Stock, Griffin y Burnell, 2002	Europa (Irlanda)
<i>H. floridensis</i> Nguyen, Gozel, Köppenhöfer y Adams, 2006	Norte América (USA)
<i>H. georgiana</i> Nguyen, Gozel, Köppenhöfer y Adams, 2006	Norte América (USA)
<i>H. indica</i> (= <i>indicus</i>) (Poinar, Karunakar y David, 1992) Syn. <i>H. hawaiiensis</i> Gardner, Stock y Kaya, 1994.	Asia (India), América Central, Norte América
<i>H. marelata</i> (= <i>marelatus</i>) Liu y Berry, 1996. Syn <i>H. hepialius</i> Stock, Strong y Gardner 1996.	Norte América (USA)
<i>H. megidis</i> Poinar, Jackson y Klein, 1987.	Norte América (USA), Europa
<i>H. mexicana</i> Nguyen, Shapiro-Ilan, Stuart, McCoy, James y Adams, 2004.	América Central (México)
<i>H. poinari</i> Kakulia y Mikaia, 1997.	Europa (Georgia)
<i>H. safricana</i> Malan, Nguyen, de Waal y Tiedt, 2008	África (Sur África)
<i>H. taysearae</i> Shamseldean, Abou El-Sooud, Abd-Elgawad y Saleh, 1996.	Asia (Egipto)
<i>H. zealandica</i> Poinar, 1990.	Australia (Nueva Zelandia)

Las especies de estas dos familias presentan un ciclo de vida basado principalmente en siete estados de desarrollo: huevo, cuatro instares de estados juveniles (conocidos también como "dauer") y adulto (hembra, macho o hermafrodita, según el género). La diferenciación de los estados se basa principalmente en el análisis morfométrico del individuo (Wouts, 1991). El tercer instar del estado Juvenil Infeccioso (JI), es el único que permanece vivo fuera del huésped, no se alimenta y presenta la característica particular de buscar a su huésped (Hominick y Collins, 1997). Fisiológicamente se distingue por tener un tracto alimenticio no funcional, lo que se aprecia a simple vista como una reducción en el lumen intestinal. Los JI se introducen en el insecto por sus aberturas naturales (boca, ano o espiráculos) (Tanada y Kaya, 1993), lo que es común para las dos familias; no obstante, los JI de los heterorhabditidos también pueden acceder a su presa atravesando la cutícula del insecto, gracias a una estructura queratinosa que se asemeja a un pequeño diente (Poinar, 1976). Una vez en el interior del insecto, los JI alcanzan el hemocelo, en un tiempo que puede ir desde los 30 segundos hasta los 60 minutos (Tanada y Kaya, 1993), allí liberan su simbiote y causan la muerte del insecto durante las primeras 48 horas después de la penetración, y continúan con su desarrollo en el interior del insecto (Poinar, 1990).

Durante este desarrollo se presentan las mayores diferencias entre las dos familias. Los JI de *Steinernema* spp., al parecer por cambios en la composición bioquímica del insecto huésped, causados durante la multiplicación del simbiote en el hemocelo, pasan al cuarto instar (J4), el cual se alimenta del insecto, y a partir de éste se desarrollan dos estados adultos: hembra y macho. Una vez los adultos han madurado, se presenta la cópula, y a partir de los huevos fecundados localizados en el interior de las hembras, se desarrollan los estados J1 con posterior desarrollo de J2 y J3; estos últimos (primera generación), salen de las hembras ejerciendo una presión mecánica desde su interior, lo que causa su rompimiento. Dentro de las especies de *Steinernema*, recientemente se describió una que se aleja de esta norma. Para *Steinernema hermaphroditum* (Stock et al., 2004) la mayoría de los individuos de primera generación son hermafroditas autofértiles, mientras que una pequeña proporción de la población en cada generación son machos (Griffin et al., 2001). Finalmente, si la reserva de alimento que proporciona el huésped es suficiente para continuar con un nuevo ciclo, se pueden presentar hasta tres generaciones amfimícticas dentro del mismo insecto. Por el contrario, si la reserva alimenticia no es suficiente, el J3 adquiere la bacteria simbiote alimentándose de los tejidos del cadáver del insecto y posteriormente, lo abandona. En este momento del ciclo, el J3 que ya ha incorporado su simbiote y que está listo para abandonar el huésped, se conoce como JI, el cual inicia la búsqueda de un nuevo huésped para comenzar el ciclo (Poinar, 1990; Akhurst y Dunphy, 1993; Tanada y Kaya, 1993; Kaya y Stock, 1997).

En *Heterorhabditis* el desarrollo del JI, una vez que ha alcanzado el hemocelo del insecto y liberado el simbiote, continúa con J4. En este nematodo, a diferencia de *Steinernema*, en la primera generación se desarrollan adultos hermafroditas autofértiles, pero nunca machos o hembras anfimícticas. En estos adultos, los huevos autofecundados dan lugar a estados juveniles J1, los cuales se desarrollan posteriormente en J2 y J3, de manera similar a lo que ocurre para los steinernematidos. Lo particular para las especies de heterorhabditidos es que para generaciones subsecuentes, se desarrollan machos, hembras anfimícticas y hermafroditas (Dix et al., 1992). Con base en lo anterior y en términos generales, se puede considerar que tanto *Heterorhabditis* spp. como al menos un *Steinernema* sp., pueden desarrollarse en su huésped a partir de la invasión de un solo JI, mientras que la mayoría de *Steinernema* spp., requieren al menos dos individuos para colonizar el huésped antes de multiplicarse.

Cuando el suministro de nutrientes es reducido ya sea por la capacidad del insecto o por condiciones ambientales detrimentales que reduzcan su disponibilidad, ocurre un fenómeno conocido como "endotokia matricida". En este caso, el desarrollo de los juveniles intrauterinos en las hembras o hermafroditas, va acompañado del consumo de los tejidos del parental, lo que resulta en una eficiente conversión de la biomasa del insecto a biomasa del JI, y que se traduce en la producción de juveniles eficientes para la infección de nuevos huéspedes (Johnigk y Ehlers, 1999). En esta etapa del desarrollo, si los JI cuentan con una suficiente fuente de alimento, se da paso al desarrollo de adultos, pero en el caso de encontrarse en condiciones de hacinamiento y/o limitada fuente de alimento, el desarrollo de los nematodos se detiene.

Los JI de los nematodos entomopatógenos que emergen del cadáver de los insectos, retienen la cutícula del estado de desarrollo previo (J2), la cual cumple una función de "coraza protectora", que ayuda a resguardar

al JI de factores bióticos y abióticos como desecación, congelamiento u hongos patógenos (Timper y Kaya, 1989; Poinar, 1990). Para las especies de *Heterorhabditis* spp., esta cutícula es casi permanente, mientras que para *Steinernema* spp. es débil y se pierde fácilmente cuando el JI se mueve en el suelo (Dempsey y Griffin, 2003).

La duración del ciclo puede variar entre días hasta varios meses, según las condiciones ambientales y del huésped, y pueden llegar a producirse en el hospedero cientos de miles de JI, que luego iniciarán la búsqueda de nuevos insectos (Wouts, 1981; Molina y López, 2001). Un diagrama del ciclo general de infección para especies de estas dos familias se presenta en la Figura 10.2.

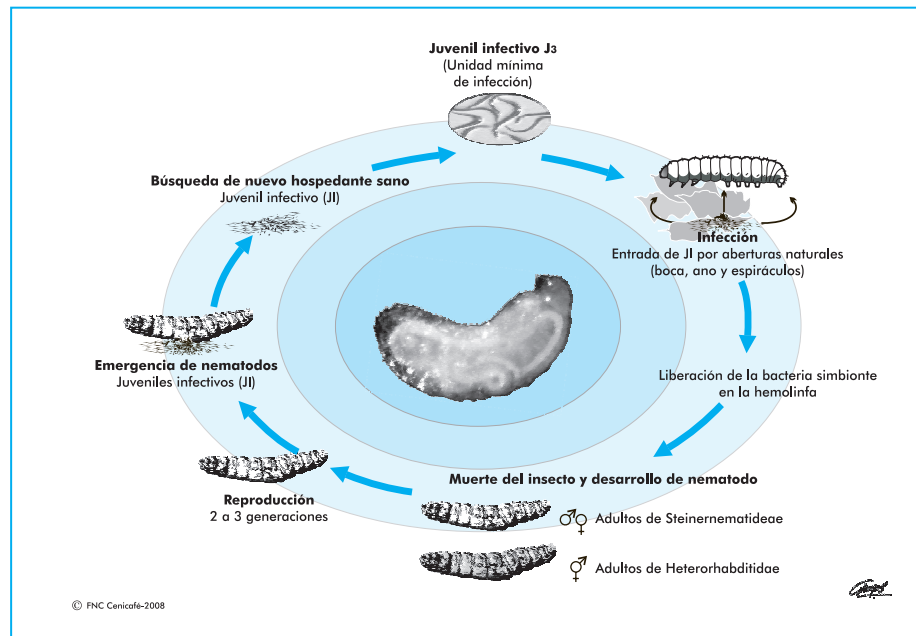


Figura 10.2. Ciclo de vida de Steinernematidae y Heterorhabditidae.

Asociación nematodo - bacteria

Hasta el momento, todas las especies de steinernematidos y heterorhabditidos guardan una asociación simbiótica con varias especies de bacterias de los géneros *Xenorhabdus* spp. y *Photorhabdus* spp., respectivamente (Akhurst y Boemare, 1990). Son bacterias Gram-negativas, anaerobias facultativas, pertenecientes a la γ -subclase de Proteobacterias, de la familia Enterobacteriaceae; sin embargo, son nitrato-reductasa negativos y *Xenorhabdus* spp., catalasa negativos (positivos para esta familia), por lo que se sugiere una revisión de la descripción de ambos géneros (Boemare, 2002).

El claro conocimiento de esta asociación es fundamental para entender tanto la compleja relación de patogenicidad que tiene el nematodo con el insecto huésped, como para lograr un desarrollo exitoso de los sistemas de producción masiva. Ambos protagonistas de esta asociación se benefician; las bacterias son en gran parte responsables de la rápida muerte de los insectos, y proporcionan un medio nutritivo apropiado para el crecimiento y la reproducción del nematodo. Además, con la producción de antibióticos, las bacterias evitan invasiones secundarias de otros organismos "oportunistas", que compiten por el alimento (insecto parasitado) (Boemare *et al.*, 1996). El nematodo protege a las bacterias de condiciones ambientales externas que pueden ser nocivas, al ubicarse ésta dentro de su tracto digestivo. También le sirven como medio de transporte (vector), desde cadáveres de insectos a insectos sanos y a nuevos huéspedes, al alcanzar el hemocelo de éstos; y para algunas asociaciones, el nematodo inhibe la respuesta inmune del insecto (Akhurst y Boemare, 1990; Akhurst y Dunphy, 1993; Griffin *et al.*, 2005).

La interacción entre el nematodo y la bacteria no es obligada y cada uno puede cultivarse por separado; sin embargo, cuando se combinan presentan un alto grado de especificidad. La paradoja de “independencia y alta especificidad”, es uno de los aspectos más interesantes de esta interacción (Griffin *et al.*, 2005). Los simbioses ocupan dos nichos ecológicamente diferentes o estados en el ciclo de vida, y su interacción con el nematodo ocurre a dos niveles. El primero es un estado forético donde la bacteria es retenida e interactúa en el intestino del J1, aparentemente sin ninguna significativa multiplicación. *Xenorhabdus* spp. se localiza en una vesícula intestinal especial de los J1 de *Steinernema* spp., mientras que *Photorhabdus* spp. se localiza principalmente en la parte anterior del intestino en los J1 de *Heterorhabditis* spp. (Bird y Akhurst, 1983; Boemare *et al.*, 1996; Hand y Ehlers, 2000). El segundo nivel, es un estado vegetativo, en donde la bacteria supera el sistema inmunológico de defensa del huésped y logra multiplicarse irrestrictamente al interior del insecto infectado (Hand y Ehlers, 2000). No obstante, últimos estudios relacionados con la localización del simbionte en el J1, demuestran que en la asociación *S. carpocapsae* – *X. nematophila*, este último coloniza una amplia región de un receptáculo en el intestino anterior, abierto en su parte posterior al intestino por una estructura similar a un tubo, el cual se abre al lumen intestinal para liberar las células bacterianas, en lugar de la vesícula descrita desde 1983 (Snyder *et al.*, 2007).

Hay una cercana relación entre la taxonomía de las especies del simbionte y de su nematodo huésped. En general, para cada especie de nematodo hay una asociación específica con una especie o subespecie de bacteria (Fischer–Le Saux *et al.*, 1998). Para las especies de *Steinernema* esta asociación es particular, y para algunos casos se encuentra la asociación de una bacteria hasta con cuatro nematodos (*Xenorhabdus boviennii* con *S. feltiae*, *S. affine*, *S. kraussei* y *S. intermedium*) y en otros, se registra una sola correspondencia como para el caso de *X. nematophila* con *S. carpocapsae*. Resultados de estudios, donde de manera complementaria se combina la caracterización fenotípica tradicional con la tipificación molecular (secuenciación de genes 16S del ARNr), dan evidencia de la diversidad de *Xenorhabdus* con 19 especies descritas: *X. nematophila*, *X. japonica*, *X. beddingii*, *X. boviennii*, *X. poinarii*, *X. budapestensis*, *X. ehlersii*, *X. innexi*, *X. szentirmai*, *X. cabanillasii*, *X. doucetiae*, *X. griffiniae*, *X. hominickii*, *X. koppenhoeferi*, *X. kozodoii*, *X. mauleonii*, *X. miraniensis*, *X. romanii*, *X. stockiae* (Griffin *et al.*, 2005; Lengyel *et al.*, 2005; Tailliez *et al.*, 2006).

Para *Heterorhabditis* spp., hasta el momento se han registrado sólo tres especies asociadas de *Photorhabdus*: *P. luminescens* (subespecies: *luminescens*, *laumondii* y *akhurstii*), *P. temperata* (subespecie *temperata*) y *P. asymbiotica* (Burnell y Stock, 2000; Griffin *et al.*, 2005). A modo de resumen, en la Tabla 10.4 se relacionan las principales diferencias entre estas dos familias de nematodos.

Tabla 10.4. Paralelo entre las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae.

Características	Steinernematidae	Heterorhabditidae
Retención de la cutícula de J2	La pierden fácilmente	La retienen
Cutícula del J2 visible	Fácilmente visible	Difícil de observar
Modo de infección	A través de boca, ano y espiráculos	A través de boca, ano, espiráculos y del integumento
1a. Generación	Anfimíctica: machos y hembras	Hermafrodita
2a. Generación	Anfimíctica: machos y hembras	Machos y hembras; y hermafroditas
Localización de bacterias simbióticas	En la porción ventricular del intestino	A lo largo de todo el intestino
Bioluminiscencia de cadáveres	No	Sí
Machos con bursa	No	Sí

* Tomado de Stock 1998.

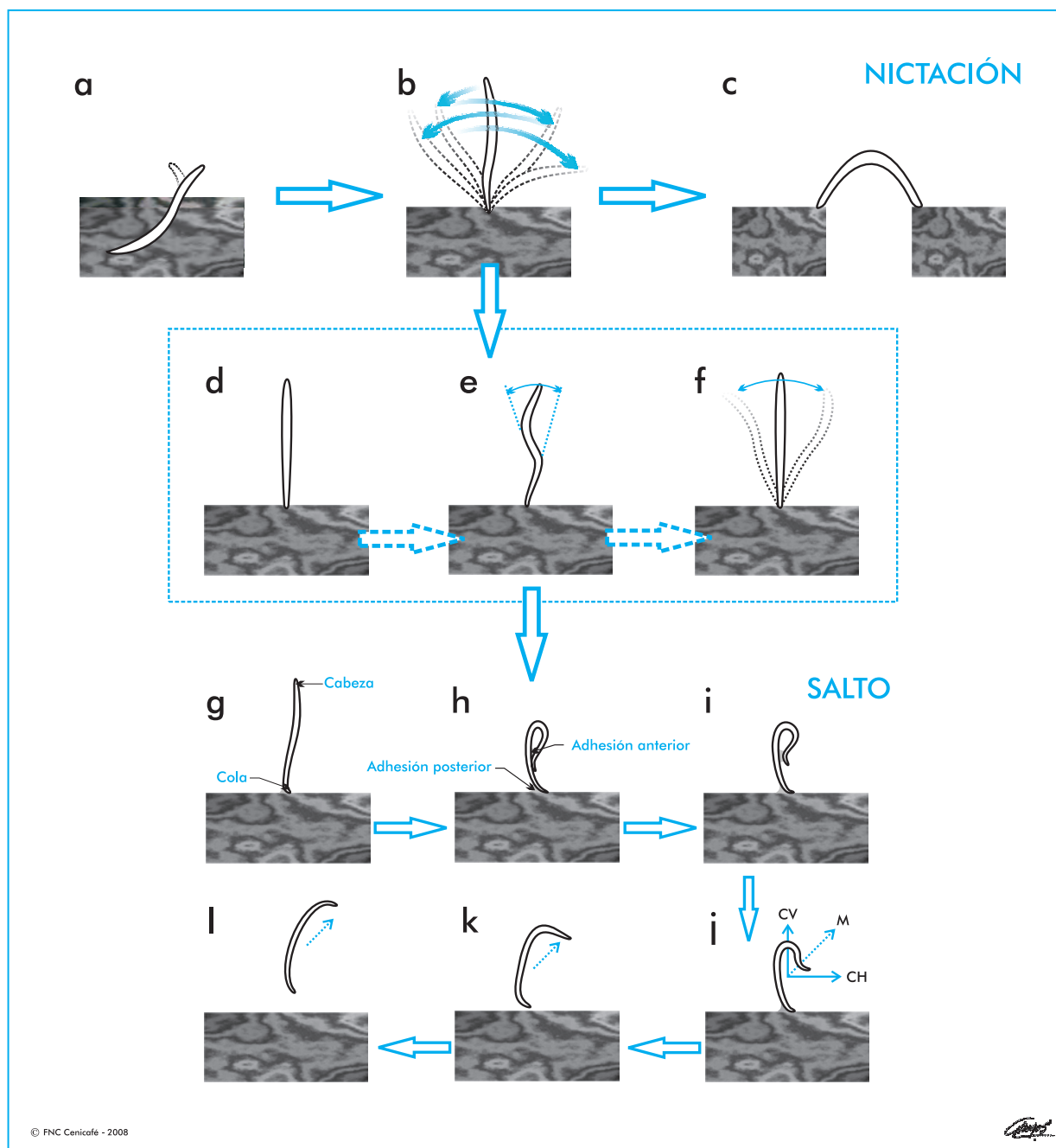
Ecología y dispersión

Aunque su hábitat natural es el suelo, el conocimiento sobre su comportamiento en éste aún es limitado. Estos nematodos tienen preferencia por suelos que permiten una buena y abundante distribución de oxígeno, como en el caso de los suelos de textura porosa y/o arenosa, en donde características propias del nematodo como actividad parasítica, sobrevivencia y dispersión, no se afectan (Kaya, 1990).

La dispersión está íntimamente relacionada con la búsqueda del huésped y puede ser de dos tipos: dispersión activa (Choo *et al.*, 1989) y pasiva (Kaya, 1990). La dispersión activa, depende del nematodo e involucra características fisiológicas (Reed y Wallace, 1965; Ishibashi y Kondo, 1990), necesidad de búsqueda de huésped (Choo *et al.*, 1989; Campbell y Kaya, 1999) y la quimiotaxis (Dusenbery, 1983; Zuckerman y Jansson, 1984), con una estrecha relación de los dos últimos. Dentro de los compuestos reconocidos como estimulantes de quimiotaxis, se registran solventes orgánicos, compuestos acuosos y nitrogenados recuperados de la cutícula y desechos fecales de insectos, metabolitos de nematodos fitopatógenos y agregaciones bacterianas, compuestos proteínicos emanados por algunos hongos, feromonas sexuales, exudados de raíces de plantas y CO₂ proveniente de la respiración de los insectos, entre otros (Dusenbery, 1983; Zuckerman y Jansson, 1984; Akhurst y Dunphy, 1993). En este sentido, se ha determinado que la respuesta de las diferentes especies de nematodos es diferente a estos factores quimiotácticos (Poinar Jr., 1990; Beeding, 1993) y se condiciona tanto por factores bióticos como abióticos (Kaya, 1990; Glazer, 1996). En la dispersión pasiva, intervienen factores externos al nematodo como el agua, el viento y las actividades humanas, entre otros (Kaya, 1990). Los órganos sensoriales más importantes presentes en estos nematodos son los anfidios (principalmente quimio-receptores) y los fasmidios (mecano-receptores) (Volcy, 1997; Stock, 1998).

La búsqueda del huésped, que es consecuencia de la necesidad fisiológica del JI de desarrollarse y multiplicarse, ha permitido caracterizarlos y diferenciarlos en aquellas especies de nematodos entomopatógenos que prefieren buscar al insecto cerca o en la superficie del suelo, y que se destacan por su desplazamiento horizontal (por ejemplo: *S. carpocapsae*), mientras que otros tienden a profundizarse en el perfil del suelo y se desplazan verticalmente (ej. *H. bacteriophora*), esta diferenciación tiene como resultado la selección del hábitat y una vez allí, los JI adoptan una de las siguientes estrategias: emboscar a su presa o buscarla, desplazándose a través del perfil del suelo (Choo *et al.*, 1989). Las especies que utilizan la primera estrategia (emboscadores) ahorran energía esperando hasta que el insecto se aproxime para saltar sobre él. Es así como estos “emboscadores” no están adaptados para atacar insectos que se profundizan e inmovilizan en el suelo (Kaya y Gaugler, 1993). En contraste, las especies que al parecer están mejor adaptadas para parasitar insectos sedentarios y subterráneos, son las que asumen la segunda estrategia y se conocen como “cruceiros o buscadores” (*H. bacteriophora* y *S. glaseri*) (Choo *et al.*, 1989; Akhurst y Dunphy, 1993).

Un fenómeno de la dispersión activa y que además de ser una respuesta a la proximidad de un huésped, le sirve al JI para orientarse y desplazarse, es lo que se conoce como “nictación”. Este comportamiento lo adoptan principalmente las especies emboscadoras (Reed y Wallace, 1965; Ishibashi y Kondo, 1990; Akhurst y Dunphy, 1993; Campbell y Kaya, 1999), y se define como una secuencia de actividades predeterminadas e ininterrumpidas, hasta que finalizan (Ishibashi y Kondo, 1990). La nictación se inicia cuando el JI eleva su parte anterior ondeándola lateralmente durante varias horas, seguido por movimientos pendulares (Figura 10.3 a y b), formando puentes con su propio cuerpo, proyectándose hacia superficies adyacentes (Figura 10.3 c) o quedándose inmóvil (Figura 10.3 d). Posteriormente, el JI realiza movimientos ondulatorios largos o cortos (Figura 10.3 e y f), como preámbulo del salto (Reed y Wallace, 1965; Ishibashi y Kondo, 1990; Campbell y Kaya, 1999), el cual es producto de un fenómeno físico, que se da a partir de la formación de repliegues u ojales (*loops*) sobre su mismo cuerpo (Figura 10.3 g al i), que al momento en el que el ojal se deshace, la fuerza resultante (M) entre el componente horizontal (CH) y vertical (CV), hace que el JI salga “disparado” cuando es mayor que la fuerza de adhesión (FA) (Figura 10.3 j a l). Todos estos eventos se presentan dependiendo de la especie; por ejemplo, los JI de *S. carpocapsae* “nictan” activamente mientras que los de *S. feltiae*, lo hacen por períodos cortos y sin pausa, y los JI de *S. glaseri* raramente “nictan” (Ishibashi y Kondo, 1990).



■ ■ **Figura 10.3.** Dispersión activa de JI de nematodos entomopatógenos.

Factores que afectan la efectividad de los nematodos entomopatógenos

La alteración de las condiciones de su hábitat natural, tanto individual o en interacción, como tamaño de poro del suelo, disponibilidad de agua, humedad, temperatura y composición química, entre otros, ocasionados por factores externos, pueden afectar su persistencia en el campo, su capacidad de infección, hasta su capacidad de dispersión. Estos factores se clasifican en abióticos y bióticos (Kung *et al.*, 1991; Patel *et al.*, 1997).

Factores abióticos. Dentro de estos factores, la temperatura unida a la humedad del suelo, afectan principalmente la persistencia y la dispersión. Los nematodos entomopatógenos varían frente a estas características de manera inter e intraespecífica con sobrevivencia y eficacia en parasitismo dentro de un amplio rango (3 a 35°C) (Patel, et al., 1997). Valores de pH del suelo extremos (11 ó 3) limitan su capacidad de infección pero no su viabilidad, y humedades extremas, además de afectar su viabilidad y establecimiento debido al desecamiento del JI, pueden dificultar su movilidad ya que suelos muy saturados a pesar de lo que se pudiera pensar, dificultan el desplazamiento y la capacidad de búsqueda del huésped del JI y generan condiciones anaerobias que reducen su viabilidad (Ishibashi y Kondo, 1990; Koppenhofer et al., 1997). Suelos salinos o con altas concentraciones de iones (por ejemplo: altos niveles de aluminio), afectan su integridad celular y por lo tanto, su viabilidad (Glazer, 1996).

La aplicación de agroquímicos al modificar las características del suelo, también puede afectar la permanencia y supervivencia de los nematodos. Numerosos estudios dirigidos a determinar su efecto directo o indirecto, han mostrado que la tolerancia varía intra-específicamente teniendo en muchos casos efecto nematostático o nematocida, dependiendo de los tiempos de exposición a la mayoría de agroquímicos (fertilizantes, fungicidas, insecticidas, herbicidas, reguladores de crecimiento y extractos vegetales), presentando sinergismo en algunos casos, al aplicarse en mezcla para el control de algunos insectos plaga (Kaya, 1990; Glazer, 1996). A lo que sí resultan susceptibles es a algunos nematocidas (Glazer, 1996).

Factores bióticos. En la literatura, se registra diversidad de organismos como hongos, bacterias, virus, protozoos, ácaros, insectos y hasta nematodos, que pueden llegar a ser antagonistas o factor de mortalidad de estos nematodos entomopatógenos en el campo (Kaya, 1990; Kaya y Koppenhöfer, 1996; Epsyk, et al., 1998). Si se tiene en cuenta que la interacción de los JI con el insecto es una relación tripartita (nematodo-simbionte-huésped), el efecto de los agentes bióticos interviene en el desarrollo, multiplicación y establecimiento. Esta intervención se presenta a varios niveles: 1) afectando la sobrevivencia del JI; 2) afectando el establecimiento y/o desarrollo del simbiote, y 3) afectando al insecto una vez ha sido invadido por el nematodo. En este sentido, la coevolución vuelve a tener consecuencias, al ser la doble cutícula o “coraza protectora” para el JI, el mecanismo de defensa para algunas especies de nematodos entomopatógenos (Kaya, 1990).

Panorama del uso de nematodos entomopatógenos en Colombia

Los primeros registros sobre el uso de estos entomopatógenos para el control de insectos plaga en Colombia, y sobre el efecto de algunos parásitos de invertebrados, datan de la década de los setenta (Tabla 10.5).

Tabla 10.5. Investigaciones realizadas en Colombia, sobre el uso de nematodos para el control de insectos plaga, entre 1970 y 1990.

Plaga / Nombre común	Cultivo	Nematodo / Estado del insecto atacado	Institución / Fuente
<i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lep: Noc) / Gusano cogollero del maíz	Maíz, arroz, sorgo, trigo, caña, pastos	<i>Neoaplectana carpocapsae</i> (= <i>Steinernema</i>) / larvas	UNAL. Palmira / Landazabal et al., 1973
<i>Oxydia trychiata</i> (Guenée). (Lep: Geom.) / Gusano medidor	Forestales (ciprés, pino, café)	<i>Neoaplectana carpocapsae</i> (= <i>Steinernema carpocapsae</i>) / larvas	ICA / Bustillo, 1976
<i>Aeneolamia varia</i> (Fabricius) (Hem: Cer) / Salivitas, salivazos o miones de los pastos	Pastos, arroz, maíz, sorgo	<i>Hexameris dactylocerus</i> / ninfas.	ICA / ICA, 1980
<i>Premnotrypes vorax</i> (Hustache). (Col: Cur.) / Gusano blanco de la papa	Papa, nabo, rábano, uchuva	<i>Neoaplectana</i> sp. (= <i>Steinernema</i> sp.) / larvas	ICA / ICA, 1983; Castrillón, 1989

Desde entonces y con especial énfasis a partir de la década de los noventa, la literatura nacional e internacional documenta el potencial de esta herramienta para utilizarla en programas de control de plagas de importancia económica en Colombia, como los coleópteros: *Premnotrypes vorax* (Hust.) (Garzón *et al.*, 1996), *Anomala* spp. y *Phyllophaga* spp.^{3,4} (CIAT, 2003; Quintero, 2003; Zuluaga, 2003; Bellotti *et al.*, 2005), *Cosmopolites sordidus* (Ger.)⁵; *Metamasius hemipterus sericeus* (Oliver)⁶. Así mismo, se ha reportado su uso en cultivos de plátano, banano, hortalizas, flores, café, palma, caña, piña, papa y cítricos, para el control de los hemípteros *Aenolamia varia* (Fab.) (Poinar y Linares, 1985), *Mahanarva fimbriolata* (Fab.) (Leite *et al.*, 2005), *Bemisia tabaci* (Gen.) (Cuthbertson *et al.* 2003; Head *et al.* 2004) y *Otiorhynchus sulcatus* (Fab.) (Kakouli *et al.*, 1997; Kakouli y Hauge, 1999). En cultivos de pastos, arroz, maíz y sorgo, se han utilizado para el control de lepidópteros como: *Tecia solanivora* (Pov.) (Sáenz, 1998; Sáenz y Luque, 2000; Corredor *et al.*, 2006) y *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lezama *et al.*, 2001); en palma africana para el control de *Sagallassa valida* Walker (Montufar, 1993; Ortiz *et al.*, 1994; Sáenz *et al.*, 2005) y *Cyparissius daedalus* Cram. (Ayala *et al.*, 2004). En cultivos de papa, yuca, cebolla y espárrago, los nematodos entomopatógenos se han evaluado para el control de hemípteros como: *Cyrtomenus bergy* Froesch (Caicedo y Bellotti, 1996; Barberena y Bellotti, 1998). También se reporta su uso para el control de dípteros, como *Bradysia agrestis* Sas., *Musca domestica* L. (Rehnn, 1995) y *Boophilus microplus* (Can.)^{7,8}, en cultivos de hongos comestibles y en áreas de explotación ganadera (Kim *et al.*, 2004). En cultivos ornamentales y hortalizas contra trips como *Frankliniella occidentalis* Per. (Ebsa *et al.*, 2001 a, b, 2004; Premachandra *et al.*, 2003).

Aunque Colombia sea un país megadiverso y de naturaleza agrícola, llama la atención que desde las primeras investigaciones realizadas hasta hoy (más de 30 años), los trabajos en investigación con esta herramienta de control sean tan escasos y sin ejemplos de su incorporación dentro de programas MIP. Con excepción de la información obtenida en los últimos ocho años por algunos Centros de Investigación como Cenicafe, Cenipalma, CIAT, ICA y Corpoica, y unas cuantas Universidades apoyadas por estos Centros, se puede decir que la producción a este nivel es mínima. Lo anterior, se debe principalmente al desconocimiento sobre su biología, comportamiento, distribución, sistemas de multiplicación y del potencial que tienen para implementarse en programas MIP.

Uso de nematodos entomopatógenos en el cultivo del café

La información sobre su uso práctico es escasa. En Cuba, se tienen registros del uso de *Heterorhabditis bacteriophora* (cepa HC1) y *Verticillium lecanii*, integrándolos dentro del manejo de la chinche harinosa en el cultivo del café (Martínez *et al.*, 1998). En este registro se menciona que en las localidades donde se realizaron las aplicaciones de entomopatógenos combinadas con prácticas agronómicas, se disminuyeron los niveles de infestación y se obtuvieron mayores rendimientos. En cuanto a trabajos en que consistentemente se presenten resultados que permitan considerar a los nematodos entomopatógenos como una herramienta de control de plagas en la caficultura, la información es limitada, y Cenicafe ha sido pionero en estas investigaciones, y ha liderado el desarrollo de esta herramienta de control biológico, enfocada al control principalmente de poblaciones de broca que se resguardan en los frutos del suelo (López, 2005) y que son la principal fuente de infestación para cosechas posteriores (Bustillo *et al.*, 1998; Bustillo, 2006).

³ Londoño, M. 1999. Memorias. II Seminario Nematodos Entomopatógenos. Universidad Nacional Bogotá. Bogotá (Colombia), p 55.

⁴ Navarro, J. F. 1999. Memorias. II Seminario Nematodos Entomopatógenos. Universidad Nacional Bogotá. Bogotá (Colombia), p 37.

⁵ Sepúlveda *et al.*, 2003. Resúmenes Congreso SOCOLEN 30. 2003. Cali (Colombia), p. 68.

⁶ Jiménez *et al.*, 2003. Resúmenes Congreso SOCOLEN 30. Cali (Colombia), p. 71.

⁷ Sepúlveda *et al.*, 2007 a. Resúmenes Congreso SOCOLEN 34. 2007, Cartagena (Colombia). p. 123.

⁸ Sepúlveda *et al.*, 2007 b. Resúmenes Congreso SOCOLEN 34. 2007, Cartagena (Colombia). p. 124.

Nematodos y la broca del café

Hasta el momento sólo se tienen dos registros de nematodos afectando naturalmente la broca del café; el primero se presentó en India en 1994, donde Varaprasad *et al.* (1994) encontraron a *Panagrolaimus* sp. (Panagrolaimidae), típico bacterióvoro, afectando adultos de *H. hampei*. El segundo registro fue en México, en el municipio de Cacahoatán en Chiapas, en donde a partir de hembras de broca extraídas de frutos de café caídos se aisló a *Sphaerulariopsis* sp. (Thylenchida: Sphaerularioidea), nematodo parásito de invertebrados (Castillo y Barrera, 1998; Castillo *et al.*, 2002), y que finalmente fue descrito como nueva especie *Methaparasitlenchus hypothenemi* (Allantonematidae) (Poinar *et al.*, 2004). Estos registros, son evidencia de las diferentes asociaciones que pueden presentar los nematodos del suelo con la broca guarecida en el fruto, y de las condiciones favorables que este hábitat ofrece para el desarrollo y la permanencia del patógeno. Esto último concuerda con observaciones realizadas en los laboratorios de Cenicafé, en donde a partir de frutos brocados recolectados de diferentes regiones cafeteras colombianas, se ha registrado diversidad de nematodos con hábitos omnívoros, algívoros y bacterióvoros, principalmente de la familia Diplogasteridae (resultados no publicados).

Las especies de las familias de Steinernematidae y Heterorhabditidae, tienen gran potencial para el control de insectos como la broca del café, pues además de ofrecer ciertas ventajas frente a los insecticidas químicos por ser seguros al ambiente, no afectar plantas ni humanos, ser de alta aceptación comercial y ser activos al buscar el insecto plaga, son letales a la hora de ser usados como herramienta de control de insectos (Gaugler, 1981; CIBC, 1990; Georgis y Hom, 1992).

El primer trabajo que registra el efecto de especies de estas familias, se realizó en Inglaterra, en 1989, cuando en el laboratorio describen el efecto parasítico de *Heterorhabditis bacteriophora*, sobre larvas y adultos de la broca (Allard y Moore, 1989). Posteriormente, otros registros en el laboratorio presentan el efecto patogénico de *Steinernema glaseri*, *S. feltiae*, *S. carpocapsae* y *Heterorhabditis bacteriophora*, principalmente, sobre adultos (Lubego, 1992; Castillo y Marbán, 1996). Recientemente, en Cuba se registró la susceptibilidad de larvas, pupas y adultos de broca a *S. cubanum*, *H. indica* y *H. bacteriophora* (Valdés y Escobar, 2006).

No obstante que actualmente las especies comercialmente disponibles ofrecen una perspectiva muy prometedora para usarlos como reguladores de la broca del café, no son específicas para la broca, y por lo tanto, se requiere incrementar esfuerzos en la búsqueda de especies de estos nematodos con atributos para controlar biológicamente a la broca, así como también es necesario desarrollar los métodos para multiplicarlos (Castillo, 2007). Lo anterior, ha sido entendido y priorizado en Cenicafé desde hace diez años, por lo cual se han adelantado y orientado las investigaciones con el objetivo de obtener información de especies nativas de los géneros *Steinernema colombiense* López, y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar⁹ (López *et al.*, 2008), sobre su virulencia, comportamiento, ciclo de vida y estrategias de búsqueda sobre la broca del café (Molina y López 2002, 2003; López 2002). Adicionalmente, el conocimiento sobre sistemas de aplicación (Lara y López, 2005), los resultados de control de broca con aplicaciones en mezcla con hongos entomopatógenos¹⁰ tanto en invernadero como en el campo, en pequeña escala (Del Castillo, 2004; Giraldo, 2003; Lara *et al.*, 2004), y el hallazgo de nuevas especies aisladas del ecosistema cafetero (López *et al.*, 2007), virulentas a la broca del café¹¹, permiten considerar a esta herramienta biológica promisoría dentro del Manejo Integrado de la Broca.

⁹ LÓPEZ N., J.C. 2007. Informe Anual de Actividades. Disciplina de Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café. Cenicafé. Chinchiná, Caldas (Colombia).

¹⁰ CASTAÑO M., A. M.; BENAVIDES M., P.; LÓPEZ N., J. C. 2007. Evaluación de mezclas de nematodos y hongos entomopatógenos para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae). En: CONGRESO de la Sociedad Colombiana de Entomología, 34. Cartagena (Colombia), Julio 25-27, 2007. Resúmenes. Cartagena (Colombia), SOCOLEN, 2007. p. 62.

¹¹ QUINTERO V., J. C.; BENAVIDES M., P.; LÓPEZ N., J. C. 2007. Evaluación de nematodos entomopatógenos nativos para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae). En: CONGRESO de la Sociedad Colombiana de Entomología, 34. Cartagena (Colombia), Julio 25-27, 2007. Resúmenes. Cartagena (Colombia), SOCOLEN, 2007. p. 63.

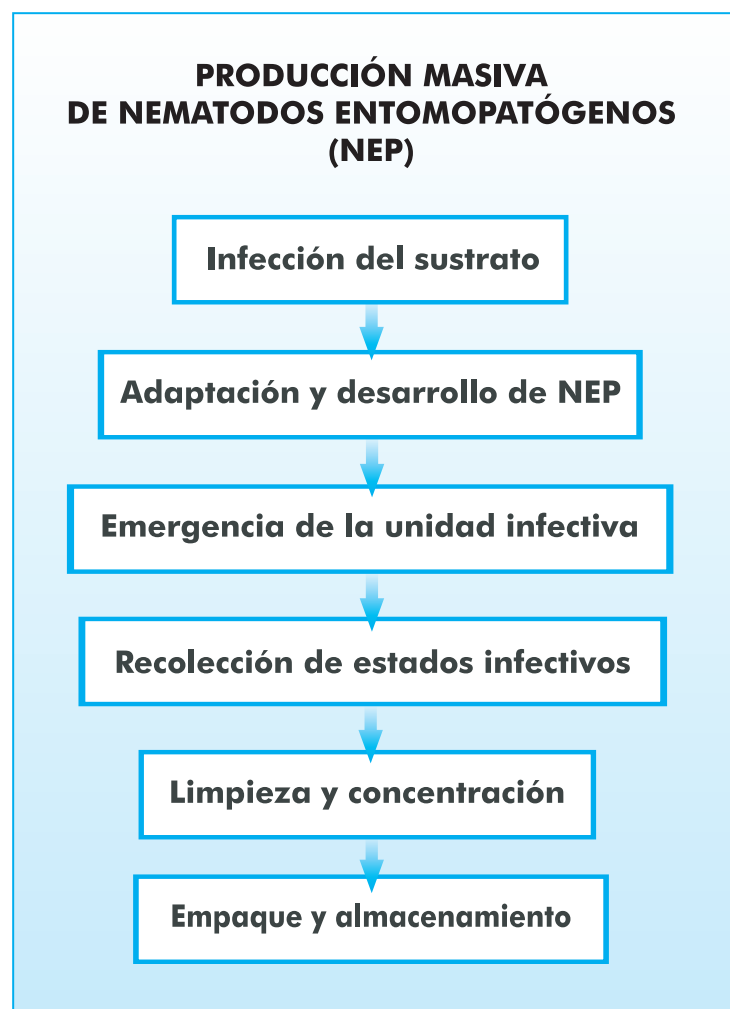
Situación actual sobre la producción de nematodos entomopatógenos

A pesar de los avances en la producción masiva de nematodos entomopatógenos en los últimos 15 años en el mundo, en Colombia son escasos los desarrollos; esto se convierte en “un cuello de botella”, ante una eventual demanda de productos con base en estos controladores biológicos. Un esquema general del proceso para la producción de nematodos se presenta en la Figura 10.4.

En la literatura, para la producción masiva de nematodos entomopatógenos se describen dos sistemas: *in vivo* e *in vitro* (Kaya y Stock, 1997). En el primero, se utilizan insectos vivos fáciles de criar, susceptibles al patógeno y que permiten aumentar la producción masiva; este sistema se ha generalizado para la mayoría de las especies actualmente descritas, utilizando larvas de *Galleria mellonella*, *Bombyx mori*, *Spodoptera frugiperda* y otros lepidópteros, con producciones de más de 300.000 nematodos por larva (Bustillo, 1976; Marston *et al.*, 1975; Sáenz y Luque, 2000; Molina y López, 2001). Nuevamente, Cenicafé ha sido pionero al implementar la producción *in vivo* en larvas de *G. mellonella*, que ha permitido contar con el material suficiente para realizar diferentes trabajos en el laboratorio y en el campo. Actualmente en Cenicafé, bajo este sistema se multiplica *Steinernema colombiense*, nematodo entomopatógeno parásito de la broca del café (Realpe *et al.*, 2007).

La producción incluye dos procesos (Figura 10.5): el primero corresponde a la producción del sustrato (larvas de *Galleria mellonella*), que se desarrolla a partir de siembras de 1.000 huevos del insecto (90 mg) en dieta artificial (1 kg), durante 55 días (25°C, 75-80% HR, oscuridad) para obtener entre 800 y 850 larvas de VIII ínstar, con un peso de 250 a 280 mg/larva, en promedio (Figura 10.5A y B). El segundo proceso, corresponde a la producción del nematodo e incluye cinco etapas: 1) Infección de larvas, que se realiza en recipientes cerrados en los cuales se distribuyen 40 g de larvas (aproximadamente 160 larvas), las cuales posteriormente son infectadas, mediante aspersión manual, con 30.000 nematodos de *S. colombiense*. Luego, los recipientes se llevan a incubación por 48 h (25±2°C; 80±5% H. R.; oscuridad constante), obteniendo mortalidades del 97 - 100% (Figura 10.5C). En la etapa 2 o maduración (Figura 10.5D), el nematodo se desarrolla y se reproduce en el interior de la larva parasitada. Después, 480 larvas parasitadas (aprox. 120 g), se llevan a mallas plásticas en bandejas multiusos (18 cm x 21cm x 5 cm), con orificios de ventilación de 3,5 cm de diámetro. Cada bandeja, se mantiene en oscuridad constante a 25±2°C y H.R 90-95%, durante nueve días (Figura 10.5D). En la etapa 3 o cosecha de nematodos (Figura 10.5E), se observa la aparición de nematodos sobre los cadáveres de las larvas, los cuales se retiran mediante aspersión de 25 mL de agua estéril por malla (boquilla TX3; 40 psi), cubriendo la superficie de la malla y arrastrando hasta el fondo del recipiente al nematodo emergente. Durante la etapa de tamizado y limpieza (Figura 10.5F), diariamente se retira el agua asperjada, la cual se concentra en un colector final de 5 L, y allí, se decantan los nematodos por gravedad, durante 2 h. Al final de este tiempo y para limpiarlos de residuos de insecto (etapa 4), los nematodos se pasan por un tamiz (425 mesh) (Figura 10.5F), por el que pasan solamente nematodos viables y limpios, que se centrifugan (5000 r.p.m. / 3 min.). Finalmente, los nematodos se llevan a la etapa 5 (Figura 10.5G), para eliminar el exceso de agua y determinar la viabilidad y concentración (nematodos/mL) y dosificarlos según los requerimientos (esponja o líquido, por ejemplo: 30 millones/esponja ó 300 mL) (Figura 10.5G). Esta labor requiere un tiempo aproximado de 4 h. Con base en este proceso, se conoce que una larva de *G. mellonella* produce aproximadamente 75.000 nematodos (Juveniles Infeccivos) de *S. colombiense*, con una viabilidad mínima del 95%, lo que permite un almacenamiento en esponja (30 millones), hasta de 6 meses, sin que se disminuya su viabilidad en más de 10%.

En la literatura mundial, se registran diferentes intentos para escalar el sistema de producción *in vivo*, basados principalmente en el uso de “Trampas White” (White, 1927), de mayor tamaño. Estas modificaciones aumentan la distancia de migración del JI al depósito final, lo que reduce la eficacia de extracción. Carne y Reed (1964), describieron un aparato alternativo para la cosecha de nematodos, en donde se colocan los cadáveres del insecto parasitado en un disco que se reclina en la boca de un embudo. Los nematodos que emergen migran a través del disco y se recuperan en el fondo del embudo, donde se acopla una llave de paso. La principal innovación consiste en el disco central perforado, a través del cual los nematodos pasan al depósito del agua, y así reducen su desplazamiento lateral. Sin embargo, no hay informes que presenten resultados donde este diseño haya sido probado. Gaugler *et al.* (2002), diseñaron el primer sistema escalable para la producción masiva *in vivo* de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, en larvas de *G. mellonella* (LOTEK

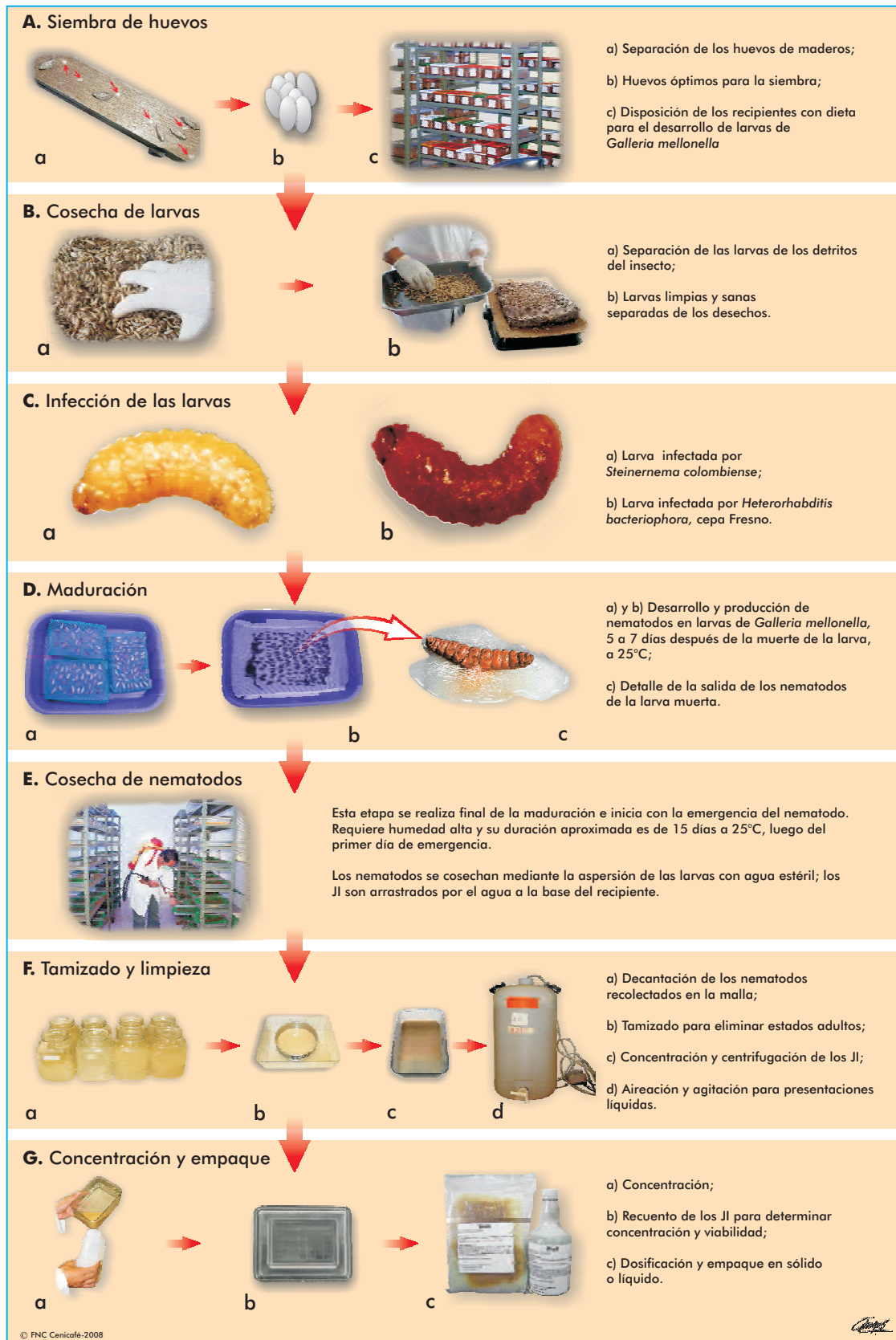


■ **Figura 10.4.** Proceso general de producción masiva de nematodos entomopatógenos.

patente # USSN 09/845,816). El objetivo del desarrollo, consistió en ofrecer una tecnología de producción más económica y de alta eficiencia. En LOTEK, básicamente se acoplan las etapas del proceso general de producción masiva, descritos en la Figura 10.4.

El sistema de producción *in vitro*, ya sea en cultivo sólido o líquido, incorpora medios artificiales para la reproducción del nematodo, y cuando se requieren cantidades comerciales, es la única manera económica y razonable para suplir las necesidades de mercado (Ehlers y Shapiro-Illan, 2005). Para desarrollar este sistema se requiere de un amplio conocimiento en cuanto a la biología y el comportamiento de la especie del nematodo, de su simbiote y de la interacción de los dos organismos. Esto último es un proceso complejo, en donde se incorporan diferentes eventos que deben ser simulados, como la liberación de las células del simbiote, la reproducción de las señales de “recovery” y “food signal” que se han acuñado como “señales inductoras de recuperación”, para explicar lo que sucede en los lapsos de desarrollo del nematodo (Ehlers y Shapiro-Illan, 2005).

Otro fenómeno que se presenta principalmente durante las diferentes formas de producción *in vitro* de especies de *Steinernema* y que debe monitorearse para garantizar la alta calidad de los JI producidos, es el estado de fase del simbiote *Xenorhabdus*. Para este género, básicamente se han diferenciado dos fases: primaria (FI) y secundaria (FII), y aunque aún no se conozcan las razones por las cuales se presenta este evento, se registra el cambio indiscriminado de una fase a otra (Grunder, 1997; Han y Ehlers, 2000). En la Figura 10.6, se presenta un esquema de las fases aisladas en trabajos realizados en Cenicafé.



■ **Figura 10.5.** Diagrama general de la producción *in vivo* de nematodos entomopatógenos, desarrollado en Cenicafe.

En Colombia han sido pocos los intentos de producir nematodos bajo ese sistema. Resultados de estudios realizados por Parada *et al.* (2006), registran la producción de *S. feltiae* cepa Colombia, tanto en medio sólido MX (con promedios de producciones por erlenmeyer de $19,2 \times 10^6$ JI, en 23 días de proceso), como en medio líquido, utilizando reactores de 3 L (con una producción de $9,6 \times 10^6$ JI en 1,5 L de medio líquido), obteniendo bajo los dos sistemas el desarrollo de JI con características de comportamiento, morfológicas y fisiológicas normales.

Los dos sistemas de producción presentan ventajas y desventajas. En términos generales, la producción *in vivo* es apropiada para mercados pequeños, cooperativas de agricultores y otros campos comerciales donde la falta de capital y capacitación o experiencia técnica, y poca inversión en infraestructura, no pueden justificar los altos costos de inversión en los que incurre la tecnología de cultivo *in vitro* (Ehlers y Shapiro-Illan, 2005), lo que se traduce en bajos costos y fácil implementación, especialmente en países donde la mano de obra no es costosa; adicionalmente, la calidad de los productos es superior. Para el sistema *in vitro*, la mayor ventaja es que las cantidades de nematodos producidas son superiores por unidad de producción (gramo o mililitro), lo que facilita la implementación industrial a gran escala (Friedman, 1990; Gaugler y Georgis, 1991; Flanders *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 1997; Grewal y Georgis, 1998).



■ **Figura 10.6.** Simbionte aislado de *S. colombiense*, y desarrollado en el medio de cultivo NBTA. (a) Fase I; (b) Fase 2; (c) Reversión de Fase.

Alrededor del mundo existen más de 90 empresas que producen y/o distribuyen nematodos entomopatógenos para el control de insectos, tanto en la agricultura como en la medicina y veterinaria (López, 2005). En los últimos años, compañías como Syngenta, Novartis, Rhone-Poulenc, Koppert, MicroBio, Beker Underwod, Biotech, BioControl, ThermoTrilogy, BioLogic e Hydro-gardens, en Austria, Suiza, Inglaterra, Alemania, Japón, Holanda, Estados Unidos y Canadá, han invertido y desarrollado formulaciones de algunas especies como *H. bacteriophora* Poinar, *H. indica* Poinar, Karunakar y David, *H. megidis* Poinar, Jackson y Klein, *S. carpocapsae* (Weiser), *S. feltiae* (Filipjev), *S. scapterisci* Nguyen y Smart, y *S. riobrave* Cabanillas, Poinar & Raulston, comercializándolas en presentaciones líquidas y sólidas con inertes como alginato, arcilla, poliacrilamida, geles y vermiculita, entre otros (Georgis y Hom, 1992; Hominick y Collins, 1997; Grewal y Georgis, 1998). Los precios con que se ofrecen los productos en el mercado dependen de la especie del nematodo, del cultivo, de la plaga a controlar y de la formulación ofrecida (Shapiro y McCoy, 2000). En las Tablas 10.6 y 10.7, se presentan algunos ejemplos de formulaciones y precios con los que se comercializan los productos.

Consideraciones finales

El uso de estrategias biológicas como los nematodos entomopatógenos, para implementar dentro del control de insectos plaga en la agricultura colombiana, tiene total cabida bajo las condiciones actuales del país. En el entorno mundial, los factores que han influido en el desarrollo de este tipo de agentes son la seguridad de su aplicación, por la inocuidad en insectos benéficos, vertebrados y plantas, exención de

Tabla 10.6. Ejemplos de productos de nematodos entomopatógenos (NEP), disponibles en el mercado internacional, y tiempo de almacenamiento.

Formulación	NEP (especie)	Producto	Compañía	Almacenamiento (meses)	
				Ambiente	Refrigeración
Gel de Alginato	<i>S. carpocapsae</i>	Mioplant	Novartis, Viena, Austria	3,0 – 4,0	6,0 – 9,0
	<i>S. carpocapsae</i>	Boden-Nützlinge	Rhône-Poulenc, Celaflor, Alemania		
	<i>S. feltiae</i>	Boden-Nützlinge	Rhône-Poulenc, Celaflor, Alemania	0,5 – 1,0	4,0 – 5,0
Geles solubles	<i>S. carpocapsae</i>	Biosafe	SDS Biotech, Minato-Ku, Tokio, Japon	1,0 – 1,5	3,0 – 5,0
	<i>S. feltiae</i>	Exhibit	Novartis, Basel, Suiza		
	<i>S. feltiae</i>	Stealth	Novartis, Macclesfield, Chester, Inglaterra		
Arcilla	<i>H. bacteriophora</i>	nr	nr	1,5 – 2,0	0
	<i>S. carpocapsae</i>	nr	nr	1,0 – 1,5	3,0 – 4,0
	<i>H. megidis</i>	Nemasys-H	MicroBio, Cambridge, Inglaterra	nr	Nr
	<i>S. feltiae</i>	LarvaNem	Koppert B.V., Berkel en Rodenrings, Holanda	nr	Nr
		Nemasys	MicroBio, Cambridge, Inglaterra	1,0 – 1,5	4,0 – 6,0
	<i>S. scapterisci</i>	Entonem	Koppert B.V., Berkel en Rodenrings, Holanda	nr	Nr
		Proactant Ss	BioControl, Gainesville, FL, USA		
Gránulos solubles	<i>S. carpocapsae</i>	Biosafe	ThermoTrilogy, Columbia, MD, USA	4,0 – 3,0	9,0 – 12,0
	<i>S. carpocapsae</i>	Biosafe-N	ThermoTrilogy, Columbia, MD, USA		
	<i>S. carpocapsae</i>	BioVector	ThermoTrilogy, Columbia, MD, USA		
	<i>S. carpocapsae</i>	Vector TL	Lesco, Lansing, MI, USA	nr	Nr
	<i>S. carpocapsae</i>	Helix	Novartis, Mississauga, Canada	nr	Nr
	<i>S. feltiae</i>	X-GNAT	E.C. Geiger, Harleysville, PA, USA	1,5 – 2,0	5,0 – 7,0
		Magnet	Amycel-Spawn Mate, Watsonville, CA, USA		
	<i>S. riobrave</i>	BioVector	ThermoTrilogy, Columbia, MD, USA	2,0 – 3,0	4,0 – 5,0
		Vector MC	Lesco, Lansing, MI, USA		

nr: información no registrada

Tabla 10.7. Presentaciones y precios de comercialización de nematodos entomopatógenos.

Nematodo	Jl (millones)	Dosis (m ²)	Precio*	
			US \$	\$
<i>Steinernema</i> sp.	10	84 - 232	24,9	49.800
<i>Steinernema</i> sp.	50	1.000	54,0	108.000
<i>Steinernema</i> sp.	100	2.000	99,0	198.000
<i>Steinernema</i> sp.	200	4.000	190,0	380.000
<i>H. bacteriophora</i>	10	204	25,90	51.800
<i>H. bacteriophora</i>	50	408	54,0	108.000
<i>H. bacteriophora</i>	100	2.000	104,0	208.000
<i>H. bacteriophora</i>	200	4.000	196,0	392.000

<http://www.biconet.com/biocontrol/nemas.html> (Último acceso 01/02/07)

* 1 US\$ \ \$ 2.000

registro de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y disponibilidad comercial. Sobre lo último, la empresa privada nacional, deberá realizar importantes inversiones.

El beneficio intrínseco que se obtiene en el uso de especies nativas, no sólo para preservar y proteger la biodiversidad natural de ecosistemas frágiles, sino también para aprovechar su adaptación natural al medio ambiente, principalmente al clima y a las condiciones del suelo, hacen de estos organismos unos candidatos apropiados para desarrollar e implementar programas de Manejo Integrado en Colombia, contribuyendo con la sostenibilidad de la agricultura del país.

Literatura citada

- AGUILERA, M. M. 2002. Nematóides do bem. Cultivar, 25: 52-54.
- AKHURST, R. J.; BOEMARE, N. 1990. Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus*. In: Entomopathogenic nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Eds. Boca Raton, CRC Press, p. 75-90.
- AKHURST, R. J.; DUNPHY, G. B. 1993. Tripartite interactions between symbiotically associated entomopathogenic bacteria, nematodes, and their insect hosts. In: Parasites and pathogens of insects. Volume 2: Pathogens. Beckage, N. E.; Thompson, S.N.; Frederici, B.A. Eds. Academic Press. San Diego, p. 1-23.
- ALLARD, G. B.; MOORE, D. 1989. *Heterorhabditis* sp., nematodes as control agents for coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Scolytidae). Journal of Invertebrate Pathology, 54 (1): 45-48.
- ALM, S. R.; YEH, T.; HANULA, J. L.; GEORGIS, R. 1992. Biological control of japanese, oriental, and black turf grass ataenius beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) larve with entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae). Journal of Economic Entomology. 85: 1660-1665.
- ANDALÓ, V.; NGUYEN, K. B.; MOINO Jr.; A. 2006. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida:Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. Nematology. 8(6), 853-867.
- AYALA, L. D.; CALVACHE, H.; LEIVA, F. A. 2004. Evaluación de técnicas de aplicación de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) para el control del barrenador gigante de la palma *Cyparissius daedalus* Cramer en los llanos orientales de Colombia. Agronomía Colombiana, 22 (2): 119-127.
- BARBERENA, M. F.; BELLOTTI, A. C. 1998. Parasitismo de dos razas del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* sobre la chinche *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae) en laboratorio. Revista Colombiana de Entomología, 24 (1-2): 7-11.

- BEDDING, R. A. 1993. Biological control of *Sirex noctilio* using the nematode *Deladenus siricidicola*. In: Nematodes and the biological control of insect pests. East Melbourne Victoria (Australia), CSIRO, information service. p. 11-20.
- BEDDING, R. A.; IEDE, E. T. 2005. Application of *Beddingia siricidicola* for sirex woodwasp control. In: Nematodes as biocontrol agents. Grewal, P. S.; Ehlers, R. U.; Shapiro-Ilan, D.I. Eds. Chapter 21. CABI Publishing. Oxfordshire. U.K., p. 385 - 399.
- BEDDING, R. A.; MILLER, L. A. 1981. Use of a nematode, *Heterorhabditis heliothidis*, to control black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*, in potted plants. Annals of Applied Biology, 99: 211-216.
- BELLOTTI, A. C.; MELO, E. L.; ARIAS, B.; HERRERA, C. J.; HERNÁNDEZ, M. DEL P.; HOLGUÍN, C. M.; GUERRERO, J. M.; TRUJILLO, H. 2005. Biological control in the neotropics: A selective review with emphasis on cassava. In: International Symposium on Biological Control of Arthropods. sept. 12-16, Davos, Switzerland. Mark S. Hoddle, Compiter. Vol. I, p. 206-227.
- BILGRAMI, A. L.; BREY, C. 2005. Potential of predatory nematodes to control plant-parasitic nematodes. In: Nematodes as biocontrol agents. Grewal, P. S.; Ehlers, R. U.; Shapiro-Ilan, D. I., Eds. Chapter 3. CABI Publishing. Oxfordshire. U.K., p. 447 - 464.
- BIRD, R. A.; AKHURST, R. J. 1983. The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. International Journal of Parasitology, 13: 599-606.
- BLAXTER, M. L.; DE LEY, P.; GAREY, J. R.; LIU, L. X.; SCHELDEMAN, P.; VIERSTRAETE, A.; VANFLETEREN, R.; MACKEY, L. Y.; DORRIS, M.; FRISSE, L. M.; VIDA, J. T.; THOMAS, W. K. 1998. A molecular evolutionary framework for the phylum nematoda. Nature, 392: 71-75.
- BOEMARE, N. 2002. Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: Entomopathogenic Nematology. Gaugler, R. Eds. CAB International, Walingford, U.K., p. 35-56.
- BOEMARE, N.; LAUMOND, C.; MAULEON, H. 1996. The entomopatogenic nematode bacterium complex; biology, life cycle and vertebrate safety. Biocontrol Science and Technology, 6 (3): 333 – 345.
- BURNELL, A. M.; STOCK, S. P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts - lethal pathogens of insects. Nematology, 2 (1): 31-42.
- BUSTILLO, A. E. 1976. Patogenicidad de nematodo *Neoplectana carpocapsae* en larvas, prepupas y pupas de *Oxydia trychiata*. Revista Colombiana de Entomología. 2 (4): 139-144.
- BUSTILLO, A. E. 2006. Una revisión sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en Colombia. Revista Colombiana de Entomología. 32(2):101-116.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D. A.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA, F. J. 1998. Manejo de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. 2 ed. Editorial Feriva, Chinchiná, Cenicafé 134 p.
- CAICEDO, A. M.; BELLOTTI, A. 1996. Reconocimiento de nemátodos entomopatógenos nativos asociados con *Cirtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) en ocho localidades de Colombia. Revista Colombiana de Entomología, 22: 19-24.
- CAMPBELL, J. F.; KAYA, H. K. 1999. How and why a parasitic nematode jumps. Nature, 397: 485-486.
- CAPINERA, J. L.; EPSKY, N. D. 1992. Potential for biological control of soil insects in the Caribbean basin using entomopathogenic nematodes. Florida Entomologist, 75 (4): 525-532.
- CAPPAERT, D. C.; KOPPENHÖFER, A. M. 2003. *Steinernema scarabaei*, an entomopathogenic nematode for control of the European chafer. Biological Control, 28: 379-386.
- CARNE, P. B.; REED, E. M. 1964. A simple apparatus for harvesting infective stage nematodes emerging from their insect hosts. Parasitology, 54: 551-553.

- CASTILLO, A. 2007. Nematodos parásitos de la broca del café. *In: La broca del café en América Tropical: Hallazgos y enfoques*, J. F. Barrera, A. García, V. Domínguez & C. Luna. Eds. Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur, México, p. 111-120.
- CASTILLO, A.; BARRERA, J. F. 1998. Primer registro de nematodo parasitando a la broca del café en cafetales de México. *In: II Reunión Intercontinental sobre broca del café*, J. F. Barrera, A. A. Guerra, J. J. Menn & P. S. Baker, Eds, 29 de marzo a 2 de abril de 1998. Tapachula, Chiapas (México). p. 47.
- CASTILLO, A.; INFANTE, F.; BARRERA, J. F.; CARTA, L.; VEGA, F. E. 2002. First field report of a nematode (Tylenchida: Sphærolarioidea) attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in the Americas. *Journal of Invertebrate Pathology*, 79: 199-202.
- CASTILLO, A.; MARBÁN, M., N. 1996. Evaluación en laboratorio de nematodos steinernematidos y heterorhabditidos para el control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.). *Nematropica*, 26 (2):101 – 109.
- CASTRILLÓN A., C. 1989. Manejo integrado del picudo negro, *Cosmopolites sordidus* (Germar) en plátano y banano en la zona cafetera de Colombia. Asociación para la Cooperación en Investigaciones Bananeras en el Caribe y en América Tropical. *In: ACORBAT. Memorias IX*. Maracaibo – Venezuela, p 349 -360.
- CHARWAT, S. M.; DAVIES, K. A.; HUNT, C. H. 2000. Impact of a Rhabditid nematode on survival and fecundity of *Cernuella virgata* (Mollusca: Helicidae). *Biocontrol Science and Technology*, 10: 147-155.
- CHEN, S.L., LI, X.H., YAN, A., SPIRIDONOV, S.E.; MOENS, M. 2006. A new entomopathogenic nematode, *Steinernema hebeiense* sp. n. (Rhabditida: Steinernematidae), from North China. *Nematology*, 8: 563-574.
- CHOO, H., KAYA, H. K. 1993. Parasitism of the brown planthopper by the Mermithid nematode *Agamermis* in rice. *In: Nematodes and the biological control of insect pests*. East Melbourne, Victoria (Australia), CSIRO. Information Service, p. 21-26.
- CHOO, H. Y.; KAYA, H. K.; BURLANDO, T. M.; GAUGLER, R. 1989. Entomopathogenic nematodes: Host-finding ability in the presence of plant roots. *Environmental Entomology*, 18: 1136-1140.
- CIAT. 2003. Integrated Pest and disease management in major agroecosystems. Annual report. Soil Pest – Cassava and other crops, p. 53-70.
- CIBC. COMMONWEALTH INSTITUTE OF BIOLOGICAL CONTROL. 1990. Control biológico de la broca de la cereza del cafeto. *In: Manual de Capacitación de Control Biológico*. Chinchiná (Colombia), Cenicafe, p. 140 - 153.
- COOMANS, A. 2000. Nematode systematics: past, present and future. *Nematology*, 2 (1): 3-7.
- CORREDOR, L. T.; LUQUE, J. E.; PARADA, J. C. 2006. Proceso e infección de *Steinernema feltiae*, cepa Colombia, sobre larvas de *Tecia solanivora*. *In: Nematodos entomoparásitos: experiencias y perspectivas*. Parada S., J. C.; Luque Z., J. E.; Piedrahía C, W. de J. Eds. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia-Facultad de Agronomía, p. 81-98.
- CUTHBERTSON, A. G.; HEAD, J.; WALTERS, K. F.; GREGORY, S. A. 2003. The efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against the immature stages of *Bemisia tabaci*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 83 (3): 267-267.
- DAVIDSON, J. A.; GILL, S.; RAUPP, M. J. 1992. Controlling clearwing moths with entomopathogenic nematodes: the dowood borer case study. *Journal of Arboricultura*, 18: 81-84.
- DE LEY, P. 2000. Lost in worm space: phylogeny and morphology as road maps to nematode diversity. *Nematology*, 2 (1): 9-6.
- DE LEY, P.; BLAXTER, M. 2002. Systematic position and phylogeny. *In: Lee, D.L. (ed.). The Biology of Nematodes*. Taylor and Francis, New York, p. 1-30.
- DEL CASTILLO R., J. A. 2004. Evaluación de mezclas de entomopatógenos para el control de poblaciones de broca en el suelo. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas, (Tesis: Ingeniero Agrónomo), San Juan de Pasto, Colombia, 97 p.

- DEMPSEY, C. M.; GRIFFIN, C. T. 2003. The infectivity and behaviour of exsheathed and ensheathed *Heterorhabditis megidis* infective juveniles. *Nematology*, 5: 49-53.
- DIX, I.; BURNELL, A. M.; GRIFFIN, C. T.; JOYCE, S. A.; NUGENT, J. M. 1992. The identification of biological species in the genus *Heterorhabditis* (Nematoda: Heterorhabditidae) by cross breeding second-generation amphimictic adults. *Parasitology* 104: 509-518.
- DOWNING, A. S.; ERICKSON, S. G.; KRAUS, M. J. 1991. Field evaluation of entomopathogenic nematodes against citrus root weevils (Coleoptera: Curculionidae) in Florida citrus. *Florida Entomologist*, 74: 584-586.
- DUNCAN, L. W.; MCCOY, C. W.; TERRANOVA, A. C. 1996. Estimating sample size and persistence of entomogenous nematodes in sandy soils and their efficacy against the larvae of *Diaprepes abbreviatus* in Florida. *Journal of Nematology*, 28: 56-67.
- DUSENBERY, D. B. 1983. Chemotactic behavior of nematodes. *Journal of Nematology*, 15 (2): 168-173.
- EBSA, L.; BORGEMEISTER, C.; BERNDT, O.; POEHLING, H. M. 2001a. Efficacy of entomopathogenic nematodes against soil-dwelling life stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 78: 119-127.
- EBSA, L.; BORGEMEISTER, C.; BERNDT, O.; POEHLING, H. M. 2001b. Impact of entomopathogenic nematodes on different soil-dwelling stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), in the laboratory and under semi-field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 11: 515-525.
- EBSA, L.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING, H. M. 2004. Effectiveness of different species / strains of entomopathogenic nematodes for control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*), at various concentrations, host densities and temperatures. *Biological Control*, 29: 145-154.
- EHLERS, R. U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: Practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 303-316.
- EHLERS, R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. 2005. Mass production. *In: Nematodes as biocontrol agents*. Grewal, P. S.; Ehlers, R. U.; Shapiro-Ilan, D.I. Eds. Chapter 3. CABI Publishing. Oxfordshire. U.K., p. 65 - 78.
- EPSKY, N. D.; WALTER, D. E.; CAPINERA, J. I. 1998. Potential role of nematophagous microarthropods as biotic mortality factors of entomogenous nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Economic Entomology*, 81: 821-825.
- FINNEY, J. R.; WALKER, C. 1979. Assessment of a field trial using the DD-136 strain of *Neoaplectana* sp. for the control of *Scolytus scolytus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 33: 239-241.
- FISCHER-LE SAUX, M.; MAULEON, H.; CONSTANT, P.; BURNEL, B.; BOEMARE, N. 1998. PCR-ribotyping of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* isolates from the Caribbean region in relation to the taxonomy and geographic distribution of their nematode hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 4246-4254.
- FLANDERS, L. K.; MILLER, M. J.; SHIELDS, J. E. 1996. *In vivo* production of *Heterorhabditis bacteriophora* "Oswego" (Rhabditidae: Heterorhabditidae) a potential biological control agent for soil-inhabiting insects in temperate regions. *Journal of Economic Entomology*, 89 (2): 373- 380.
- FRIEDMAN, M. J. 1990. Commercial production and development. *In: Entomopathogenic nematodes in biological control*. Gaugler R.; Kaya, H. K., Eds. Boca Raton (USA), CRC Press, p. 153-172.
- FUNDERBURK, J.; LATSHA, K. S. 2005. The Entomophilic *Thripinema*. *In: Nematodes as biocontrol agents*. Grewal, P. S.; Ehlers, R. U.; Shapiro-Ilan, D. I., Eds. Chapter 22. CABI Publishing. Oxfordshire. U. K., p. 401 - 410.
- GARZÓN, M. Y.; AZA, B. O.; JIMÉNEZ, J.; LUQUE, J. E. 1996. Potencial del nematodo *Steinernema* sp. para el control biológico del gusano blanco de la papa. *Revista Colombiana de Entomología*, 22 (1): 25-30.
- GAUGLER, R. 1981. Biological control potential of neoplectanid nematodes. *Journal Nematology*, 13 (3): 241-249.
- GAUGLER, R.; BROWN, I.; SHAPIRO-ILAN, D.; ATWA, A. 2002. Automated technology for *in vivo* mass production of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 24: 199-206.

- GAUGLER, R.; GEORGIS, R. 1991. Culture method and efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Biological Control*, 1: 269-274.
- GEORGIS, R.; GAUGLER, R. 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *Journal of Economic Entomology*, 84: 713-720.
- GEORGIS, R.; HAUGE, N. G. M. 1988. Field evaluation of *Steinernema feltiae* against the webspining larch sawfly, *Cephalcia lariciphila*. *Journal of Nematology*, 20: 317-320.
- GEORGIS, R.; HOM, A. 1992. Introduction of entomopathogenic nematode products into latin america and the caribbean. *Nematopica*, 22 (1): 81-98.
- GEORGIS, R.; POINAR, G. O. Jr. 1984. Greenhouse control of the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) by heterorhabditid and steinernematid nematodes. *Environmental Entomology*, 13: 1138-1140.
- GILL, S. A.; DAVIDSON, J. A.; RAUPP, M. J. 1992. Control of the peach tree borer, *Synanthedon exitosa* (Lepidoptera), in landscape setting utilizing entomopathogenic nematodes. *Journal of Arboriculture*, 18 184-187.
- GILL, S. A.; RAUPP, M. J. 1997. Evaluation of biological and chemical application for control of Ireis borer. *Journal of Environmental Horticulture*, 15:108-110.
- GIRALDO, D. P. 2003. Comportamiento de entomonematodos en el control de poblaciones de broca en árboles de café. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, (Tesis: Ingeniero Agrónomo). Manizales, Colombia, 83 p.
- GLAZER, I. 1996. Survival mechanisms of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 373-378.
- GORDON, R.; WEBSTER, J. M. 1974. Biological control of insect by nematodes. *In* :Helminthological abstracts. Series B, Plant Nematology, 43 (3): 137-151.
- GREWAL, P. S.; GEORGIS, R. 1998. Entomopathogenic nematodes. *In*: F. R: Hall and J: J: Menn, eds. *Methods in biotechnology* , Vol. 5, Biopesticides: use and delivery. Totowa, N. J.: Humana Press, p. 271-299.
- GREWAL, P. S.; GREWAL, S. K.; TAYLOR, R. A. J.; HAMMOND, R. B. 2001. Application of molluscicidal nematodes to slug shelters: a novel approach to economic biological control of slugs. *Biological Control*, 22: 72-80.
- GREWAL, P. S.; MARTIN, W. R.; MILLER, R. W.; LEWIS, E. E. 1997. Suppression of plant-parasitic nematode populations in turfgrass by application of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 7: 393-399.
- GREWAL, P. S.; POWER, K. T.; GREWAL, S. K.; SUGGARS, A.; HAUPRICHT, S. 2004. Enhanced consistency in biological control of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) with new strains of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 30: 73-82.
- GRIFFIN, C. T.; BOEMARE, N. E.; LEWIS, E. E. 2005. Biology and behaviour. *In*: Grewal, P. S., Ehlers, R.-U. & Shapiro-Ilan, D.I. (Eds). *Nematodes as biological control agents*. Wallingford, UK, CABI Publishing, p. 47-64.
- GRIFFIN, C. T.; O'CALLAGHAN, K.; DIX, I. 2001. A self-fertile species of *Steinernema* from Indonesia: further evidence of convergent evolution amongst, entomopathogenic nematodes?. *Parasitology*. 122: 181-186.
- GRUNDER, J. M. 1997. *Photorhabdus luminescens* als Symbiont insektenpathogener Nematoden. Ph. D., thesis. ETH Zurich, Switzerland.
- HAND, R.; EHLERS, R. 2000. Pathogenicity development and reproduction of *Heterorabdhitis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75 (1): 55-58.
- HARRIS, M. A.; OETTING, R. D.; GARDNER, W. A. 1995. Use of entomopathogenic nematodes and a new technique for control of fungus gnats, *Bradysia coprophila*, (Diptera: Sciaridae) in floriculture. *Biological Control*, 5: 412-418.

- HASS, B.; GLEN, D. M.; BRAIN, P.; HUGHES, L. A. 1999a. Targeting biocontrol with the slug-parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* in slug feeding areas: a model study. *Biocontrol Science and Technology*, 9: 587-598.
- HASS, B.; HUGHES, L. A.; GLEN, D. M. 1999b. Overall versus band application of the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* with and without incorporation into soil, for biological control of slugs in winter wheat. *Biocontrol Science and Technology*, 9: 579-586.
- HEAD, J.; LAWRENCE A. J.; WALTERS K. F. 2004. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against *Bemisia tabaci* in relation to plant species. *Journal of Applied Entomology*, 128 (8): 543-547.
- HOMINICK, W. H.; COLLINS, S. A.. 1997. Application of ecological information for practical use of insect pathogenic nematodes. CAPÍTULO 2. *In: Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?*. Symposium proceedings No. 68. Farham (Inglaterra) British Crop Protection Council, 302 p.
- ICA. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 1983. Al fin uno. Notas y noticias Entomológicas. Enero-Febrero 1983. Bogotá, Colombia, p. 3.
- INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA. 1980. Se descubre otro enemigo. Notas y noticias Entomológicas (Colombia). Julio-Agosto 1980, Bogotá, Colombia, p. 95.
- ISHIBASHI, N.; KONDO, E. 1990. Behavior of infective juveniles. *In: Entomopathogenic nematodes in biological control*. Gaugler R.; Kaya, H. K., Eds. Boca Raton, CRC Press, p. 139-150.
- JAGDALE, G. B.; CASEY, M. L.; GREWAL, P. S.; LINDQUIST, R. K. 2004. Effects of application rate and timing, potting medium, and host plant on efficacy of *Steinernema feltiae* against fungus gnat, *Bradysia coprophila*, in floriculture. *Biological Control*, 29: 296-305.
- JOHNIGK, S. A.; EHLERS, R. U. 1999. Endotokia matricida in hermaphrodites of *Heterorhabditis* spp., and the effect of the food supply. *Nematology*, 1 (7-8): 717-726.
- KAKOULI, D. T.; HAGUE G. M. N. 1999. Infection, development, and reproduction of the entomopathogenic nematode *Steinernema arenarium* (Nematoda: Steinernematidae) in the black vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematology*, 1 (2): 149 – 156.
- KAKOULI, T.; LABUSCHANGE, L.; HAGUE, N. G. M. 1997. Biological control of the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae), with entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida). *Annals of Applied Biology*, 131: 11-27.
- KARD, B.; HAIN, F.; BROOKS, W. 1988. Field suppression of three white grubs species (Col: Scarabidae) by the entomogenous nematodes *S. feltiae* and *H. heliothidis*. *Journal of Economy Entomology*, 81 (4): 1033-1039.
- KAYA, H. K. 1990. Soil ecology. *In: Entomopathogenic nematodes in biological control*. Gaugler R.; Kaya, H. K. Editores. Boca Raton (USA), CRC Press, p. 93-115.
- KAYA, H. K.; BEEDING, R. A.; AKHURST, R. J. 1993. An overview of insect parasitic and entomopathogenic nematodes. *In: Nematodes and the biological control of insect pests*. East Melbourne Victoria (Australia), CSIRO, information service, p. 1-10.
- KAYA, H. K.; BROWN, L. R. 1986. Field application of entomogenous nematodes for control of clear-wing moth borers in alder and sycamore trees. *Journal of Arboriculture*, 12: 150-154.
- KAYA, H. K.; GAUGLER, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *In: Annual Review of Entomology*, 38: 181-206.
- KAYA, H. K.; HARA, A. H.; REARDON, R. C. 1981. Laboratory and field evaluations of *Neoaplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and the western spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). *Canadian Entomologist*, 113: 787-793.
- KAYA, H. K.; KOPPENHÖFER, A. M. 1996. Effects of microbial and other antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 357-371.
- KAYA, H. K.; LINDERGREN, J. E. 1983. Parasitic nematode controls western polar borer. *California Agriculture*, 37: 31-32.

- KAYA, H. K.; REARDON, R. C. 1982. Evaluation of *Neoaplectana carpocapsae* for biological control of the western spruce budworm, *Choristoneura occidentalis*: ineffectiveness and persistence of tank mixes. *Journal of Nematology*, 14: 595-597.
- KAYA, H. K.; STOCK, S. P. 1997. Techniques in insect nematology. In: *Manual of techniques in insect pathology*. Lawrence Lacey. Eds. Academic Press, Inc. San Diego. Chapter, 6. p. 281-324.
- KIM, H. H.; CHOO, H. Y.; KAYA, H. K.; LEE, D. W.; LEE, S. M.; JEON, H. Y. 2004. *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) as a biological control agent against fungus gnat *Bradysia agrestis* (Diptera: Sciaridae) in propagation houses. *Biocontrol Science and Technology*, 14: 171-183.
- KOPPENHÖFER, A. M.; BAUR, M.; STOCK, P.; CHOO, H.; CHINNASRI, B.; KAYA, H. K. 1997. Survival of entomopathogenic nematodes within host cadavers in dry soil. *Applied Soil Ecology*, 6: 231-240.
- KOPPENHÖFER, A. M.; FUZY, E. M. 2003a. *Steinernema scarabaei* for the control of white grubs. *Biological Control*, 28: 47-59.
- KOPPENHÖFER, A. M.; FUZY, E. M. 2003b. Biological and chemical control of the Asiatic garden beetle, *Maladera castanea* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 96:1076-1082.
- KOPPENHÖFER, A. M.; WILSON, M. G.; BROWN, I.; BAUR, M.; KAYA, H. K.; GAUGLER, R. 2000. Biological control agents for white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) in anticipation of the establishment of the Japanese beetle in California. *Journal of Economic Entomology*, 93: 71-80.
- KUNG, S. P.; GAUGLER, R.; KAYA, H. K. 1991. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology*, 57: 242-249.
- LACEY, L. A.; FRUTOS, R.; KAYA, H. K.; VAILS, P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future?. *Biological Control*, 21: 230-248.
- LANDAZABAL, J.; FERNÁNDEZ, F.; FIGUEROA, A. 1973. Control biológico de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), con el nematodo: *Neoaplectana carpocapsae* en maíz (*Zea mays*). *Acta Agronómica*, 23 (3-4): 41-70.
- LARA, J. C.; LÓPEZ N., J. C. 2005. Evaluación de diferentes equipos de aspersión para la aplicación de nematodos entomopatógenos. *Revista Colombiana de Entomología*, 31 (1): 1 - 4.
- LARA, J. C.; LÓPEZ N., J. C.; BUSTILLO, A. E. 2004. Efecto de entomonematodos sobre poblaciones de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), en frutos en el suelo. *Revista Colombiana de Entomología*, 30 (2): 179 - 185.
- LEE, W.; CHOO, H. Y.; KAYA, H. K.; LEE, S. M.; SMITLEY, D. R.; SHIN, H. K.; PARK, C. G. 2002. Laboratory and field evaluation of Korean entomopathogenic nematode isolates against the oriental beetle *Exomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 95: 918-926.
- LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; GOULART, R. M.; TAVARES, F. M.; BATISTA FILHO, A. 2005. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology*, 34: 785-790.
- LENGYEL, K.; LANG, E.; FODOR, A.; SZÁLLÁS, E.; SCHUMANN, P.; STACKEBRANDT, E. 2005. Description of four novel species of *Xenorhabdus*, family Enterobacteriaceae: *Xenorhabdus budapestensis* sp. nov., *Xenorhabdus ehlersii* sp. nov., *Xenorhabdus innexi* sp. nov., and *Xenorhabdus szentirmaii* sp. nov. *Syst Appl Microbiol*, 28 (2): 115-122.
- LEZAMA, R.; HAMM, J. J.; MOLINA, J.; LÓPEZ, M.; PESCADOR, A.; GONZÁLEZ, R.; STYER E. L. 2001. Occurrence of entomopathogens of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) in the Mexican States of Michoacán, Colima, Jalisco and Tamaulipas. *Florida Entomologist*, 84 (1): 23 - 30.
- LOLA-LUZ, T.; DOWNES, M.; DUNNE, R. 2005. Control of black vine weevil larvae *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera:Curculionidae) in grow bags outdoors with nematodes. *Agricultural and Forest Entomology*, 7: 121-126.
- LOOTSMA, M.; SCHOLTE, K. 1997. Effects of the springtail *Folsomia fimetaria* and the nematode *Aphelenchus avenae* on *Rhizoctonia solani* stem infection of potato at temperatures of 10 and 15°C. *Plant Pathology*, 46: 203-208.

- LÓPEZ N., J. C.; CANO, L.; GÓNGORA, C. E.; STOCK, S. P. 2007. Diversity and evolutionary relationships of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from the Central Andean region of Colombia. *Nematology*, 9 (3): 333 - 341.
- LÓPEZ N., J. C.; 2002. Nematodos parásitos de insectos y su papel en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). In: Memorias Curso Internacional Teórico – Práctico. Sección II. Parasitoides y otros enemigos de la broca. Cenicafé, Chinchiná, Colombia, Marzo 18-22, p. 39–70.
- LÓPEZ N., J. C.; 2005. ¿Es posible el uso de entomonematodos en programas MIP en Colombia ?. Avances con la broca del café. In: SOCOLEN Sociedad Colombiana de Entomología, Simposio Broca del Café. Socolen, Ibagué, Colombia, XXXII Congreso. Julio 27 al 29, 2005. Memorias, p. 33 –39.
- LÓPEZ N., J. C.; PLICHTA, K.; GÓNGORA, C.E.; STOCK, P. 2008. A new entomopathogenic nematode, *Steinernema colombiense* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae) from Colombia. *Nematology*, 10 (4): 561 – 574.
- LUBEGO, S. 1992. The use of four Rhabditid Nematode species in the control of *Cosmopolites sordidus*, *Hypothenemus hampei* and *Cylas puncticollis*., University of Reading. Department of Agriculture. (Thesis: M.Sc. in Technology of Crop Protection), 111 p.
- MALAN, A.P.; NGUYEN, K.B.; de WAAL, J.Y.; TIEDT, L. 2008. *Heterorhabditis safricana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae), a new entomopathogenic nematode from South Africa. *Nematology*, 10(3):381-396.
- MARSTON, N.; CAMPBELL, B.; BOLDT, E. 1975. Mass producing eggs of the greater wax moth *Galleria mellonella* (L.). Technical Bulletin No. 1510. Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture, 15 p.
- MARTÍNEZ, M. A.; SURIS, M.; SÁNCHEZ, L.; RODRÍGUEZ, M. G.; GONZÁLEZ, E.; CASTELLANOS, L. 1998. Manejo integrado de chinches harinosos en el cultivo del cafeto. Resúmenes del II Congreso Taller Internacional Aportes del Control Biológico en la Agricultura Sostenible y I Congreso Latinoamericano de la Sección Regional Neotropical de la Organización Internacional de Lucha Biológica. Mayo 18-22, Lima, Perú, p. 91.
- MCCOY, C. W.; SHAPIRO, D. I.; DUNCAN, L. W.; NGUYEN, K. 2000. Entomopathogenic nematodes and other natural enemies as mortality factor for larvae of *Diaprepes abbreviatus*. *Biological Control*, 19: 182-190.
- MCCOY, C. W.; STUART, R. J.; DUNCAN, L. W.; NGUYEN, K. 2002. Field efficacy of two commercial preparations of entomopathogenic nematodes against larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in alfisol type soil. *Florida Entomologist*, 85: 537-544.
- MELO, E. L.; ORTEGA, C. A.; SUSURLUK, A.; GAIGL, A.; EHLERS, R. U. 2006. Búsqueda de nematodos entomoparásitos asociados a insectos rizófagos en regiones de Colombia y Panamá. In: Nematodos entomoparásitos: experiencias y perspectivas. Parada S., J. C.; Luque Z., J. E.; Piedrahíta C, W. de J., Eds. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia-Facultad de Agronomía, p.10-27.
- MELO, E. L.; ORTEGA, C. A.; GAIGL, A.; BELLOTTI, A. C.; EHLERS, R. U.; SUSURLUK, A. 2004. Búsqueda de poblaciones nativas de nemátodos entomopatógenos en regiones de Colombia y Panamá. Resúmenes del XXXI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), Bogotá, D. C., p. 139.
- MOLINA, J. P.; LÓPEZ N., J. C. 2001. Producción *in vivo* de tres especies de entomonematodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Revista Colombiana de Entomología*, 27 (1-2): 73-78.
- MOLINA, J. P.; LÓPEZ N., J. C. 2002. Desplazamiento y parasitismo de entomonematodos hacia frutos infestados con la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 28 (2): 145 – 151.
- MOLINA, J. P.; LÓPEZ N., J. C. 2003. Supervivencia y parasitismo de nematodos entomopatógenos para el control de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 29: 523–533.
- MONTUFAR, E. 1993. Efecto de tres concentraciones del nematodo *Steinernema carpocapsae* y del cubrimiento del plato radicular con raquis en el control del barrenador de raíces (*Saghalassa valida* W) de palma Africana de Tumaco. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad de Nariño, Pasto (Colombia), 105 p.

- MORTON, A.; GARCÍA DEL PINO, F. 2007. Susceptibility of shore fly *Scatella stagnalis* to five entomopathogenic nematode strains in bioassays. *Biocontrol*, 52 (4): 533-545.
- MRÁČEK, Z.; NGUYEN, K.B.; TAILLIEZ, P.; BOEMARE, N.; CHEN, S. 2006. *Steinernema sichuanense* n. sp. (Rhabditida, Steinernematidae), a new species of entomopathogenic nematode from the province of Sichuan, east Tibetan Mts., China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93: 157-169.
- NGUYEN, K.B.; SHAPIRO-ILAN, D.I.; STUART, R.J.; MCCOY, C.W.; JAMES, R.J.; ADAMS, B.J. 2004. *Heterorhabditis mexicana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Tamaulipas, Mexico, and morphological studies of the bursa of *Heterorhabditis* spp. *Nematology*, 6:231-244.
- NGUYEN K.B.; TESFAMARIAM M.; GOZEL U.; GAUGLER R.; ADAMS B.J. 2004. *Steinernema yirgalemense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Etiopía. *Nematology*, 6:839-856.
- NGUYEN K.B.; GOZEL U.; KÖPPENHÖFER H.S.; ADAMS B.J. 2006. *Heterorhabditis floridensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Florida. *Zootaxa*, 1177: 1-19.
- NGUYEN, K.B., MALAN, A.P.; GOZEL, U. 2006. *Steinernema khoisanense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from South Africa. *Nematology*, 8:157-175.
- NGUYEN, K.B., QIU, L., ZHOU, Y.; PANG, Y. 2006. *Steinernema leizhouense* sp. n. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from southern China. *Russian Journal of Nematology*, 14:101-118.
- NGUYEN, K. B.; STUART R. J.; ANDALO V.; GOZEL U.; ROGERS M. E. 2007. *Steinernema texanum* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Texas, USA. *Nematology*, 9(3): 379-396.
- NGUYEN, K.B.; SHAPIRO-ILAN D.; MBATA G.N. 2008. *Heterorhabditis georgiana* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Georgia, USA. *Nematology*, 10(3), 433-448.
- NGUYEN, K.B.; PŮŽA, V.; MRÁČEK, Z. 2008. *Steinernema cholashanense* n. sp. (Rhabditida, Steinernematidae) a new species of entomopathogenic nematode from the province of Sichuan, Chola Shan Mountains, China. *Journal of Invertebrate Pathology*. 97(3):251-264.
- QIU, L.; FANG Y.; ZHOU, Y.; PANG Y.; NGUYEN K.B. 2004. *Steinernema guangdongense* sp. n. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from southern China with a note on *S. serratum* (*nomen nudum*) *Zootaxa* 704: 1-20.
- QIU, L.; YAN X.; ZHOU, Y.; NGUYEN K.B.; PANG Y. 2005. *Steinernema aciari* sp. n. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Guangdong, China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88 (1): 58-69.
- QIU, L., HU, X., ZHOU, Y., MEI, S., NGUYEN K. B.; PANG, Y. 2005. *Steinernema akhursti* sp. n. (Nematoda: Steinernematidae) from Yunan, China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 90, 151-160.
- ORTIZ, E.; CALVACHE, G.; LUQUE, E. 1994. Control microbiano de *Sagalassa valida*, Walker con el nematodo *Steinernema carpocapsae* (Weiser) en Tumaco, Nariño. *Palmas*, 5 (1): 29-38.
- PARADA, J. C. 2006. Steinernematidae en Cundinamarca y sur de Boyacá, Colombia. In: Nematodos entomoparásitos: experiencias y perspectivas. Parada, J. C.; Luque, J. E.; Piedrahita C, W. de J. Eds. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia-Facultad de Agronomía, p.10-27.
- PARADA, J. C.; MARTÍNEZ, J.; SÁNCHEZ, J. 2006. Escalamiento por fermentación en medio sólido y líquido de *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae), cepa Colombia. In: Nematodos entomoparásitos: experiencias y perspectivas. Parada, J. C.; Luque, J. E.; Piedrahita, C. W. de J. Eds. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia-Facultad de Agronomía p.115-125.
- PATEL, M. N.; PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J. 1997. Desiccation survival and water contents of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal for Parasitology*, 27 (1): 61-70.
- PELOQUIN, J. J.; PLATZER, E. G. 1993. Control of root gnats (Sciaridae: Diptera) by *Tetradonema plicans* Hungerford (Tetradonematidae: Nematoda) produced by a novel culture method. *Journal of Invertebrate Pathology*, 62 (1): 79-86.

- PETERS, A. 1996. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect population. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 389 - 402.
- PHAN, L. K.; SUBBOTIN, S. A.; WAEYENBERGE, L.; MOENS, M. 2005. A new entomopathogenic nematode, *Steinernema rubustispiculum* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), from Chumomray National Park in Vietnam. *Systematic Parasitology*, 60: 23-32.
- PHAN, L.K., SPIRIDONOV, S.E., SUBBOTIN, S.A.; MOENS, M. 2006. Four new species of *Steinernema* Travassos, 1928 with short infective juveniles from Vietnam. *Russian Journal of Nematology*, 14, 11-29
- PHAN, L.K., TAKEMOTO, S.; FUTAI, K. 2006. *Steinernema ashuiense* sp. n. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Japan. *Nematology*, 8(5): 681-690.
- PLATZER, E. G.; MULLENS, B. A.; SHAMSELDEAN, M. M. 2005. Mermithid nematodes. *In*: Nematodes as biocontrol agents. Grewal, P. S.; Ehlers, R. U.; Shapiro-Ilan, D. I., Eds. Chapter 23. CABI Publishing. Oxfordshire. U.K., p. 411 - 418.
- POINAR, G. O. Jr. 1976. Description and biology of a new insect parasitic Rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen., n. sp. (Rhabditida; Heterorhabditidae N. Fam.). *Nematologica*, 21: 463-470.
- POINAR, G. O. Jr. 1990. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. *In*: Entomopathogenic nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Eds. Boca Raton (USA), CRC Press, p. 23-61.
- POINAR, G. O. Jr.; BUCKLEY, R. 2006. Nematode (Nematoda: Mermithidae) and hairworm (Nematomorpha: Chordodidae) parasites in early cretaceous amber. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93:36-41.
- POINAR, G. O. Jr.; LACHAUD, J. P.; CASTILLO, A.; INFANTE, F. 2006. Recent and fossil nematode parasites (Nematoda: Mermithidae) of neotropical ants. *Journal of Invertebrate Pathology*, 91: 19-26.
- POINAR, G. O. Jr.; LINARES, B. 1985. *Hexamermis dactylocercus* n. sp. (Mermithidae: Nematoda), a parasite of *Aeneoalmia varia* (Cercopidae: Homoptera) in Venezuela. *Revue Nématol.*, 8 (2): 109-111.
- POINAR, G. O. Jr.; VEGA, F. E.; CASTILLO, A.; CHAVEZ, I. E.; INFANTE, F. 2004. *Metaparasitylenchus hypothenemi* n. sp. (Nematoda: Allantonematidae), a parasite of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Curculionidae: Scolytinae). *Journal of Parasitology*, 90 (5): 1106-1110.
- POSADA, F. J.; CÁRDENAS, R.; ARCILA, J.; GIL, L. F.; MEJÍA, C. G. 2001. Las babosas causantes del anillado del tallo del cafeto. *Avances Técnicos Cenicafé, Chinchiná, Colombia*, No. 289, 8 p.
- PREMACHANDRA, W. T. S. D.; BORGEMEISTER, C.; BERNDT, O.; EHLERS R. U.; POEHLING, H. M.. 2003. Combined releases of entomopathogenic nematodes and the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* to control soil-dwelling stages of western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol*, 48: 529 - 541.
- QIN, X.; KAO, R.; YANG, H.; ZHANG, G. 1998. Study on application of entomopathogenic nematodes of *Steinernema bibionis* and *S. feltiae* to control *Anoplophora glabripennis* and *Holcocerus insularis*. *Forest Research*, 1: 179-185.
- QIU, L.; FANG, Y.; ZHOU, Y.; PANG, Y.; NGUYEN, K.B. 2004. *Steinernema guangdongense* n. sp.. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from southern China with a note on *S. serratum* (*nomen nudum*) *Zootaxa*, 704: 1-20.
- QIU, L.; HU, X.; ZHOU, Y.; MEI, S.; NGUYEN, K. B.; PANG, Y. 2005. *Steinernema akhursti* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae) from Yunnan, China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 90 (9): 151-160.
- QIU, L., HU, X., ZHOU, Y., PANG, Y.; NGUYEN K. B. 2005. *Steinernema beddingi* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Yunnan, China. *Nematology* 7(5): 737-749.
- QUINTERO, M. P. 2003. Comparación en laboratorio de la patogenicidad de tres especies de nematodos entomopatógenos (Rhabditida) sobre larvas de tercer ínstar de *Phyllophaga menetriesi* (Blanchard) (Coleoptera: Scarabaeidae). Trabajo de grado de Biología. Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Santiago de Cali, Colombia, 49 p.

- REALPE, F. J.; BUSTILLO, A. E.; LÓPEZ, J. C. 2007. Optimización de la cría de *Galleria mellonella* (L.) para la producción de dos nematodos entomopatógenos parásitos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Revista Cenicafe* 58 (2):142-157.
- REED, E. M.; WALLACE, H. R. 1965. Leaping locomotion by an insect-parasitic nematode. *Nature*, 206 (4980): 210-211.
- RENN, N. 1995. Mortality of immature houseflies (*Musca domestica* L.) in artificial diet and chicken manure after exposure to encapsulated entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Biocontrol Science and Technology*, 5: 349 - 359.
- ROGERS, C. E.; MARTI, O. G.; SIMMONS, A. M. 1993. *Noctuidonema guyanense* (Nematoda: Aphelenchoididae): host range and pathogenicity to the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). In: *Nematodes and the biological control of insect pests*. East Melbourne, Victoria (Australia). CSIRO. information service, p. 27-32.
- SÁENZ, A. 1998. *Steinernema feltiae* cepa Villapinzón (Rhabditida: Steinernematidae) ciclo de vida, patogenicidad y métodos de cría. Tesis Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Santafé de Bogotá, p. 125.
- SÁENZ, A.; BENITEZ, E.; DE HARO, E. 2005. Patogenicidad y signos en larvas del barrenador de raíces de palma de aceite, *Sagilassa valida*, por nematodos entomopatógenos. *Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite – Cenipalma, Ceniavances*, 127: 1-4.
- SÁENZ, A.; LUQUE, J. 2000. Cultivo *in vivo* y método de almacenamiento para juveniles infectivos de *Steinernema feltiae* (Rhabditidae: Steinernematidae). *Agronomía Colombiana*, 17 (1-3): 37-45.
- SELVAN, S.; GREWAL, P. S.; GAUGLER, R.; TOMALAK, M. 1994. Evaluation of steinernematid nematodes against *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: species, strains, and rinse after application. *Journal of Economic Entomology*, 87: 605-609.
- SHAPIRO, D. I.; MCCOY, W. C. 2000. Effects of culture method and formulation of the virulence of *S. riobrave* (Rhabditida: Steinernematidae) to *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Nematology*, 32 (3): 281-288.
- SIDDIQI, M. R. 2000. *Tylenchida* parasites of plants and insects. CAB International, Wallingford, UK, p. 633-751.
- SMITH-FIOLA, D. C.; GILL, S. A.; WAY, R. G. 1996. Evaluation of entomopathogenic nematodes as biological control against the banded ash clear-wing borer. *Journal of Environmental Horticulture*, 14: 67-71.
- SMITS, P. H. 1997. Insect pathogens: their suitability as biopesticides. In: *Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?*. Chapter 1. Symposium proceedings No. 68. Farham (Inglaterra) British Crop Protection Council, 302 p.
- SNYDER, H. STOCK, S. P., FLORES-LARA, Y., KIM, S. K.; FORST, S. 2007. New insights into the colonization and release process of *Xenorhabdus nematophila* and the morphology and ultrastructure of the bacterial receptacle of its nematode host, *Steinernema carpocapsae*. *Applied Environmental Microbiology*. 73: 5338-5346.
- SPIRIDONOV, S. E.; KRASOMIL-OSTERFELD, K.; MOENS, M. 2004. *Steinernema jolietii* sp. n. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from the American Midwest. *Russian Journal of Nematology* 12 (1): 85-96.
- STOCK, S. P. 1995. Natural populations of entomopathogenic nematodes from the Pampean Region of Argentina. *Nematropica*, 25: 143-148.
- STOCK, S. P. 1998. Sistemática y biología de nematodos parásitos y asociados a insectos de importancia económica. Universidad Nacional del Litoral. Esperanza, Santa Fe (Argentina), 106 p.
- STOCK, S. P.; GRIFFIN, C. T.; CHAERANI, R. 2004. Morphological and molecular characterization of *Steinernema hermaphroditum* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Indonesia, and its phylogenetic relationships with other members of the genus. *Nematology*, 6 (3): 401-412.

- STOCK, S. P.; HUNT, D. J. 2005. Nematode morphology and systematics. In: Grewal, P. S., Ehlers, R. U.; Shapiro-Ilan, D. I. (Eds). Nematodes as biological control agents. Wallingford, UK, CABI Publishing, p. 3-43.
- STURHAN, D.; SPIRIDONOV, S. E.; MRÁČEK, Z. 2005. *Steinernema silvaticum* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Europe. *Nematology*, 7 (2): 227-241.
- SULISTYANTO, D.; EHLERS, R. U. 1996. Efficacy of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis megidis* and *Heterorhabditis bacteriophora* for control of grubs (*Phyllopertha horticola* and *Aphodius contaminatus*) in golf course turf. *Biocontrol Science and Technology*, 6:247-250.
- TAILLIEZ, P.; PATÉS, S.; GINIBRE, N.; BOEMARE, N. 2006. New insight into diversity in the genus *Xenorhabdus*, including the description of ten novel species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 2805-2818.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. 1993. Nematodes, nematomorphs, and plathelminthes. In: *Insect pathology*. Chapter 13. San Diego, USA, Academic Press, 666 p.
- TARASCO, E.; MRÁČEK, Z.; NGUYEN, K.B.; TRIGGIAN, O. *Steinernema ichnusae* sp. n. (Nematoda: Steinernematidae) a new entomopathogenic nematode from Sardinia Island (Italy). *Journal of Invertebrate Pathology*. In Press.
- TAYLOR, A. L. 1935. A review of a fossil nematode. *Proceedings of Helminthological Society of Washington*, 2: 47-49.
- TIMPER, P.; KAYA, H. K. 1989. Role of the second stage cuticle of entomogenous nematodes in preventing infection by nematophagous fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, 54: 314-321.
- TOMALAK, M. 2004. Infectivity of entomopathogenic nematodes to soil-dwelling developmental stages of the tree leaf beetles *Altica quercetorum* and *Agelastica alni*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 110:125-133.
- TREVERROW, N.; BEEDING, R. A.; DETTMANN, E. B.; MADOX, C. 1991. Evaluation of entomopathogenic nematodes for control of *Cosmopolites sordidus* (Gemar) (Coleoptera: Curculionidae), a pest of bananas in Australia. *Annals of Applied Biology*, 119: 139-145.
- TRIGGIANI O.; MRACEK Z.; REID A. 2004. *Steinernema apuliae* sp. n. (Rhabditida: Steinernematidae): a new entomopathogenic nematode from southern Italy. *Zootaxa*. 460: 1-12.
- URIBE-LORIO L.; MORA M.; STOCK S.P. 2007. *Steinernema costaricense* n. sp. and *S. puntauense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), two new entomopathogenic nematodes from Costa Rica. *Systematic Parasitology*, 68(3):167-82
- VALDES, V. Y.; ESCOBAR, H. M. 2006. Susceptibilidad de *Hypothenemus hampei* Ferrari a las especies de nematodos entomopatógenos *Steinernema cubanum*, *Heterorhabditis indica* y *Heterorhabditis bacteriophora*. *Fitosanidad*, 10 (3): 245-246.
- VARAPRASAD, K. S.; BALASUBRAMANIAN, S.; DINAKAR, B. J.; RAO, R. C. V. R. 1994. First report of an entomogenous nematode, *Panagrolaimus* sp., from coffee-berry borer, *Hypothenemus gampei* (Ferrari) from Karnataka, India. *Plant Protection Bulletin Faridabad*, 46 (2-3): 34.
- VOLCY, C. 1997. Nematodos. El ABC de la Nematología. Tomo 1. Medellín, Colombia, 62 p.
- WAEREBEKE, D. V.; REMILLET, M. 1973. Morphologie et biologie de *Heterogonema ovamsculis* n. sp. (Nematoda: Tetradenematidae) parasite de nitidulidae (Coleoptera). *Nematologica* 19: 80-92.
- WHITE, G. F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66: 302-303.
- WILLIAMS, E. C.; MacDONALD, O.C. 1995. Critical factors required by the nematode *Steinernema feltiae* for the control of the leafminers *Liriomyza huidobrensis*, *Liriomyza bryoniae* and *Chromatomyia syngenesiae*. *Annals of Applied Biology*. 127:329-341.
- WILSON, M. J.; GLEN, D. M.; GEORGE, S. K. 1993. The rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a potential biological control agent for slugs. *Biocontrol Science and Technology*. 3:503-511.

- WOUTS, W. M. 1981. Mass production of entomogenous nematode *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) on artificial media. *Journal of Nematology*, 13 (4): 467-469.
- WOUTS, W. M. 1991. *Steinernema (Neoaplectana)* and *Heterorhabditis* species. In: *Manual of agricultural nematology*. Marcel Dekker Inc., New York.. p. 855-897.
- YANG H.; JIAN H.; ZHANG S.; ZHANG G. 1997. Quality of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema carpocapsae* Produced on Different Media. *Biological Control*, 10 (3): 193 - 198.
- YOSHIDA, M. 2004. *Steinernema litorale* n. sp. (Rhabditida:Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Japan. *Nematology*, 6:819-838.
- ZHANG C.; LIU J.; XU M.; SUN J.; YANG S.; AN X.; GAO G.; LIN M.; LAI R.; HE Z.; WU Y.; ZHANG K. 2008. *Heterorhabditoides chongmingensis* gen. nov., sp. nov. (Rhabditida: Rhabditidae), a novel member of the entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98(2):153-68.
- ZENG, Y.; GIBLIN-DAVIS, R. M.; YE, Y.; BÉLAIR, G.; BOIVIN, G.; THOMAS, W. K. 2007. *Bradynerema listronoti* n. sp. (Nematoda: Allantonematidae), a parasite of the carrot weevil *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae) in Quebec, Canada. *Nematology*. 9(5): 609-623.
- ZUCKERMAN, B. M.; JANSSON, H. B. 1984. Nematode chemotaxis and possible mechanisms of host-prey recognition. *Annual Review of Phytopathology*, 22: 95-113.
- ZULUAGA, C. A. 2003. Identificación de chizas (Col: Melolonthidae) asociadas a pasto "kikuyo" (*Pennisetum clandestinum* Hoechst) y papa (*Solanum tuberosum* L.) y sus posibles enemigos naturales en Cundinamarca. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional, Bogotá, Colombia, 52 p.



CAPÍTULO 11

Los insecticidas en el control químico de plagas

Álex Enrique Bustillo Pardey

Los insecticidas de síntesis conforman el grupo de productos utilizados para el control químico de insectos plagas, y forman parte de una de las estrategias que se utilizan para la represión de poblaciones dentro de un programa MIP. Estos compuestos se denominan comúnmente plaguicidas. El éxito del control químico o por lo menos de una aplicación de insecticidas, en el control de las plagas está supeditado al criterio que se tenga para decidir: el tipo de producto a usar, la forma de aplicarlo y el momento u oportunidad para ejecutar el tratamiento. Estas decisiones exigen conocimientos sobre las características de los productos insecticidas, los equipos de aplicación, las plagas y la planta cultivada. También hay que tener en cuenta las prácticas culturales, las condiciones climáticas, las condiciones económicas del cultivo y del agricultor, y las características culturales y sociales del medio (Andrews y Quezada, 1989; Barrons, 1981).

El desarrollo de los insecticidas

El desarrollo de los insecticidas modernos en la agricultura se inició después de terminada la Segunda Guerra Mundial. El descubrimiento de la acción insecticida del DDT en 1939, y del BHC en 1941, permitió su uso para combatir insectos vectores de enfermedades que afectaban a las tropas aliadas. Rápidamente su uso se extendió al combate de plagas agrícolas y del ganado, y más tarde se generalizó en casi todos los países; al grupo de los insecticidas clorados pronto se unió el grupo de los fosforados, posteriormente los carbamatos y más recientemente los piretroides. Con anterioridad a esta época sólo se conocían unos pocos compuestos de origen mineral y vegetal para combatir las plagas de los cultivos (Casida y Quistad, 1988; Gooding 1980).

A comienzos del siglo pasado se aplicó por primera vez un producto químico sobre extensiones relativamente grandes. Se trató del “verde de París”, un insecticida inorgánico, empleado contra el *Leptinotarsa decemlineata*, plaga de la papa en los Estados Unidos. Luego se desarrollaron otros insecticidas inorgánicos como el arseniato de calcio, para controlar insectos masticadores, y productos derivados de plantas, como la nicotina y la rotenona, contra insectos picadores-chupadores. Esta situación perduró sin mayores cambios hasta inicios de la Segunda Guerra Mundial (Forgash, 1984; Cisneros, 1974).

En la actualidad se cuenta con una gran cantidad de compuestos insecticidas y otros plaguicidas con características toxicológicas, físicas y químicas muy diversas. Miles de nuevos productos se investigan anualmente, en la búsqueda de propiedades plaguicidas, y algunos de ellos se incorporan al mercado después de muchos años de experimentación. Entre los países productores de insecticidas más importantes están Estados Unidos, Alemania, Japón, Rusia, Suiza, Italia, Holanda y recientemente, China e India (Dent, 1995; Fairchild, 1978; Jepson, 2000).

Los insecticidas son importantes por sus rápidos efectos en la represión de las plagas y por su facilidad de manejo. Se considera que su uso ha jugado un papel importante en el incremento de la productividad agrícola en las últimas décadas, sobre todo en los países más tecnificados. Las primeras aplicaciones de insecticidas modernos fueron tan espectaculares que se cifraron muchas esperanzas en la posibilidad de erradicar las principales plagas. Desafortunadamente, después de algo más de cuatro décadas de aquellos resultados extraordinarios, se puede comprobar que los problemas de plagas no han desaparecido y, por

el contrario, en muchos casos se han agravado. La utilización de los plaguicidas trajo consigo fenómenos nuevos, no previstos, como el desarrollo de resistencia a los insecticidas y la aparición de nuevas plagas por la destrucción de sus enemigos naturales (March, 1959; Moorefield, 1959; Oudejeans, 1982).

En la actualidad, la pérdida de eficacia, la aparición de nuevas plagas, la contaminación del medio ambiente, la destrucción de la fauna benéfica y silvestre, y los peligros de intoxicación, son fenómenos comunes ligados al uso de insecticidas. A pesar de todo ello, la agricultura moderna difícilmente podría mantener altos rendimientos sin el uso razonable de estos productos. Muchos de los problemas citados se han derivado del mal empleo y uso excesivo de insecticidas y plaguicidas. Aún hoy en día mucha gente, incluyendo agricultores y profesionales poco informados, creen que el control de las plagas por medio de insecticidas es algo simple y basta con seguir las instrucciones de los envases de plaguicidas o, lo que es peor, creer que “si poco es bueno, mucho es mejor”. De esta manera aumentan dosis innecesariamente o mezclan productos sin ninguna racionalidad, para estar seguros de no fallar con el tratamiento (Cisneros, 1974; Young, 1986).

Efecto de los insecticidas en el ecosistema agrícola

Desde el punto de vista ecológico, el insecticida es una sustancia tóxica que el hombre introduce al ecosistema agrícola, afectando a todos sus organismos, en particular a los animales. La intensidad del efecto varía según las características del insecticida, el grado de susceptibilidad de las especies fitófagas y benéficas presentes, la formulación y la dosis del producto, la forma en que es aplicado, la clase de cultivo y las condiciones climáticas prevalecientes durante las aplicaciones. Es normal que los efectos se extiendan más allá de los límites del campo aplicado, pues los insecticidas son fácilmente llevados por el viento y el agua (Tait y Napompeth, 1987).

Efecto de los insecticidas sobre los benéficos

Normalmente los insectos benéficos son más susceptibles que las especies fitófagas, por lo que sus poblaciones son afectadas más drásticamente por las aplicaciones de insecticidas. La destrucción de los controladores biológicos produce dos situaciones, una es la rápida resurgencia de la plaga que causa el problema y que motiva su control y la otra es la aparición de nuevas plagas (Rabb y Guthrie, 1970; Maredia *et al.*, 2003).

La **resurgencia** se debe a la eliminación de los enemigos biológicos de la plaga, que aunque no estaban en proporción satisfactoria para mantener la población de la plaga en niveles bajos, de alguna manera ejercían cierto grado de control. Una vez desaparecido el efecto del insecticida, la plaga, libre de sus enemigos biológicos, se incrementa rápidamente hasta alcanzar niveles mayores que los anteriores.

La **aparición de nuevas plagas** es consecuencia de la eliminación de los enemigos biológicos de las otras especies fitófagas, a las que mantenían en niveles bajos. Sin este control natural, las poblaciones de insectos, que antes no tenían importancia económica, se incrementan y alcanzan niveles de plagas.

Resistencia a los insecticidas

Cuando se utilizan insecticidas, las primeras aplicaciones provocan altas mortalidades en las plagas y solo unos pocos individuos, que reúnen características especiales, pueden sobrevivir. Estos individuos se seleccionan con las continuas aplicaciones y terminan formando una población distinta, capaz de sobrevivir a los tratamientos. Así se desarrollan las poblaciones resistentes a los insecticidas. El incremento de las dosis hace que la selección sea más severa y se desarrollen niveles de resistencia más altos (Forgash, 1984; Geoghion y Taylor, 1986; Dent, 1991).

Contaminación ambiental

Las aplicaciones de insecticidas contribuyen a la contaminación del medio ambiente, con el agravante de que son productos de gran actividad biológica. Las mayores dosis y los menores intervalos entre aplicaciones, y entre la última aplicación y la cosecha, pueden generar residuos tóxicos en los productos cosechados; así mismo, incrementan los riesgos de intoxicaciones directas y elevan los costos del control fitosanitario (Cisneros, 1974; Brown, 1959).

Características de los insecticidas

Cada producto insecticida presenta características toxicológicas, químicas y físicas propias, que determinan su eficacia contra las plagas, pero al mismo tiempo su efecto sobre los insectos benéficos, la planta, los animales silvestres y el mismo hombre. Las características químicas y físicas determinan su estabilidad, persistencia en el medio ambiente, compatibilidad y la forma como se preparan las formulaciones comerciales.

Toxicidad a los insectos

Para que un insecticida cause la muerte de un insecto debe afectar un sistema vital de su organismo. Así por ejemplo, las piretrinas, la nicotina, los insecticidas orgánicos sintéticos fosforados, carbamatos y piretroides afectan el sistema nervioso; los tiocianatos afectan el aparato respiratorio; los arsenicales destruyen la pared intestinal; y los insecticidas clorados orgánicos afectan procesos en la sinapsis y en el axon de la neurona. Otros insecticidas modernos afectan los procesos de muda o de quitinización del integumento (Brown, 1959).

Grado de toxicidad

El grado de toxicidad de un insecticida contra una población de insectos se expresa como Dosis Letal Media o DL_{50} , que es la cantidad de insecticida requerida para causar la muerte del 50% de un grupo representativo de insectos. La dosis letal media puede expresarse en cantidad de insecticida por individuo, por ejemplo 15 microgramos por larva o por insecto adulto, o en forma más precisa, en la cantidad de insecticida por unidad de peso del insecto. Así se dice que la DL_{50} del parathion para la cucaracha americana es de $1,2 \mu\text{g/g}$ de peso vivo del adulto (Fairchild, 1978; Guill y Eaton, 1951; NACA, 1969).

Espectro de acción de un insecticida

No todas las especies de insectos son igualmente susceptibles a la aplicación de un insecticida. Estas diferencias se deben a que, debido a algún mecanismo, el producto no llega a acumularse en el cuerpo del insecto en cantidades suficientes para ser letal. El mecanismo puede consistir en diferencias en la velocidad de absorción del insecticida, a reacciones enzimáticas que descomponen el producto, o que el producto es eliminado fácilmente (Maredia *et al.*, 2003; NAC, 1968).

También se presentan diferencias de susceptibilidad entre individuos de una misma población y, sobre todo, entre los diferentes estados de desarrollo de una especie de insecto. Especies muy próximas pueden tener grados de susceptibilidad diferentes. Así en general, *Heliothis virescens* es menos susceptible a los insecticidas que *H. zea*. Ciertos insecticidas son efectivos contra un gran número de especies plagas, mientras que otros productos sólo son efectivos contra un grupo relativamente pequeño, generalmente de especies relacionadas entre sí. Los primeros se denominan insecticidas de **amplio espectro** o politóxicos y los segundos, insecticidas **específicos**, selectivos u oligotóxicos. Ejemplos de insecticidas de amplio espectro son DDT, BHC, parathion, carbofuran y cipermetrina, entre otros. Entre los insecticidas específicos está pirimicarb, especialmente efectivo contra áfidos, Mirex, particularmente eficiente contra las hormigas, y buprofezin con efectos larvicidas persistentes contra cochinillas, cochinillas harinosas y moscas blancas. Hay muchos casos de compuestos cuyos espectros pueden considerarse intermedios; así como hay numerosas

excepciones para las generalizaciones de los insecticidas específicos y de amplio espectro (Cisneros, 1974; Rabb y Guthrie, 1970; Oudejeans, 1982).

El DDT es un insecticida de amplio espectro, pero en general es inefectivo contra langostas, grillos, cochinillas, algunos coleópteros y la mayoría de los áfidos, y sin embargo controla el áfido de la arveja *Macrosiphon pisi*. El parathion, también de amplio espectro, se usó para controlar muchas especies de cochinillas, incluyendo *Coccus pseudomagnoliarum*, pero era ineficiente contra *Coccus hesperidum*. Se puede deducir por lo expuesto, que las generalidades sobre el efecto de los productos insecticidas constituyen una orientación útil pero, en última instancia, la efectividad de un producto dado contra una plaga determinada sólo puede quedar establecida con certeza mediante la experimentación. Endrín, carbaryl y aminocarb, por ejemplo, son efectivos contra numerosas larvas de lepidópteros, y los tres productos controlan eficientemente larvas de *Anticarsia gemmatalis* de la familia Noctuidae. Sin embargo, el efecto del carbaryl es muy limitado contra *Prodenia endemia* que pertenece a la misma familia (Noctuidae), mientras que los otros dos productos son efectivos. Aldicarb es muy efectivo contra insectos picadores-chupadores del algodónero, pero en general, no controla larvas de lepidópteros; sin embargo, ha resultado efectivo contra larvas de *Bucculatrix*, pequeño lepidóptero perforador de la hoja del algodónero (Herrera, 1958; Bennelt, 1957; Beingolea, 1958).

Estabilidad y efecto residual

Los plaguicidas presentan grandes variaciones en cuanto a su estabilidad química y física. Esto afecta el tiempo y las condiciones de su almacenamiento, así como su efecto residual en la planta.

Expuestos al medio ambiente, los insecticidas que tienen una alta tensión de vapor se tornan volátiles y se dispersan más rápidamente que aquellos con baja tensión de vapor. Por otro lado, los factores físicos, químicos y biológicos del medio ambiente también influyen marcadamente en la estabilidad y la persistencia de los productos. Entre estos factores se encuentran la temperatura, la luz, la radiación ultravioleta, los agentes oxidantes, hidrolizantes y reductores, y el pH del medio, así como los fermentos y los microorganismos desintegradores (Rabb y Guthrie, 1970; Rumker y Horay, 1972).

Los insecticidas de origen vegetal como la nicotina, rotenona, piretrina y algunos insecticidas fosforados como el TEPP y DDVP, se descomponen o disipan rápidamente. Por el contrario, los insecticidas arsenicales y la mayoría de los insecticidas clorados como el DDT, el eldrín y el dieldrín persisten por largo tiempo. Los insecticidas fosforados y carbamatos incluyen tanto productos de rápida descomposición como productos de mediana y larga persistencia. Entre los insecticidas sistémicos algunos productos se descomponen rápidamente como el mevinfos, mientras que otros perduran por unas pocas semanas como el demeton o el forato, o por períodos más prolongados como el aldicarb (Rabb y Guthrie, 1970; Rumker y Horay, 1972).

En la utilización de un insecticida es importante considerar que el efecto residual prolongado confiere un mayor período de protección a las plantas, pero al mismo tiempo afecta gravemente la fauna benéfica y dificulta su recuperación, incrementa el peligro de los residuos tóxicos sobre las plantas y requiere de un mayor intervalo entre la última aplicación y la cosecha. Lo contrario puede indicarse para los productos de escaso poder residual.

Toxicidad de insecticidas a las plantas

Los insecticidas agrícolas normalmente no son fitotóxicos porque en el proceso de su selección se eliminan las sustancias con esos efectos. Sin embargo, no todos los compuestos que llegan al mercado son necesariamente inocuos para las plantas. Ciertos compuestos pueden resultar tóxicos para algunas especies de plantas o variedades, o pueden afectar la fisiología normal de la planta (floración, retención de frutos), en grados que varían con las dosis, el estado de desarrollo de la planta, las condiciones ambientales en el momento de la aplicación y la frecuencia de las aplicaciones del producto. También existen productos que resultan fitotóxicos cuando se mezclan con otros, al ser aplicados o cuando todavía quedan residuos de otras sustancias sobre la planta. Este efecto es uno de los factores que determinan la incompatibilidad de los productos (Dent, 1995; Rabb y Guthrie, 1970; Tait y Napompeth, 1987; Edwards, 1970).

Toxicidad de los insecticidas en el hombre

Los insecticidas, además de ser tóxicos para las plagas, son también tóxicos para los animales de sangre caliente, incluyendo el hombre. El personal que trabaja en la fabricación o en la formulación de los productos plaguicidas, los agricultores y operadores que manipulan y aplican los productos insecticidas, así como el consumidor de los productos vegetales tratados con estos tóxicos, están expuestos a intoxicaciones.

Tipos de toxicidad

La toxicidad se clasifica en aguda y crónica. La **toxicidad aguda** es producida por dosis relativamente altas de insecticidas que causan efectos rápidos. La **toxicidad crónica** es consecuencia de una serie de dosis pequeñas, cuyos efectos son muy difíciles de medir ya que normalmente debe transcurrir un tiempo prolongado para manifestarse. Estos efectos en la actualidad son de mucha importancia. Un insecticida en las dosis recomendadas no debe afectar la reproducción de los mamíferos, no debe generar efectos teratogénicos, ni tener efectos cancerígenos. Cualquier manifestación de estos efectos inhabilita su uso (NACA, 1969; National Research Council, 1987).

Los casos de intoxicaciones agudas generalmente son consecuencia de algún accidente en la manipulación del insecticida, por descuido o ignorancia. Las advertencias señaladas en las etiquetas de los envases se deben acatar estrictamente. Se reconocen las siguientes clases de intoxicaciones:

Dermal por contacto del insecticida con la piel

Por ingestión o toxicidad oral

Por inhalación o toxicidad pulmonar

La **toxicidad dermal** resulta del contacto con el insecticida, debido a una aplicación defectuosa o inadecuada protección del operario, como falta de calzado, ropa o protector impermeable. La **toxicidad oral** suele ser estrictamente accidental, al confundir un insecticida con un alimento o por ingerir vegetales recién tratados. La **toxicidad por inhalación** se produce por la exposición a los vapores tóxicos o a las neblinas de la aspersión. Para evitar este efecto se deben usar máscaras con filtros apropiados, debe evitarse el manejo de productos concentrados en sitios cerrados, y en el campo, al manipular o aplicar los insecticidas, el operador debe ubicarse en contra del viento para protegerse de los vapores y neblinas de los insecticidas. Después de terminar la aplicación de los insecticidas, los operarios deben bañarse o por lo menos lavarse las manos y otras partes expuestas del cuerpo, sobre todo antes de comer o fumar (NACA, 1969).

La **toxicidad aguda** de un insecticida para los animales de sangre caliente se expresa también en forma de dosis letal media (DL_{50}), tal como se indicó para los insectos, pero se expresa en miligramos de insecticida por kilogramo de peso vivo del animal. En la mayoría de los casos, la referencia de la toxicidad para los mamíferos corresponde a las dosis letales medias determinadas para ratas con administración oral, salvo que se indique otra cosa. Así, la dosis letal media para el DDT es de 250 mg/kg, la del parathion de 4 a 13 mg/kg, y la del aldicarb de 0,9 mg/kg. Cuanto menor es el valor de la dosis letal media mayor es la toxicidad del producto (NAC, 1968; NACA, 1969).

Precauciones para evitar las intoxicaciones

Por disposiciones legales, en la etiqueta de los envases se indica en forma permanente y legible el grado de toxicidad, las precauciones que deben tomarse, el antídoto y su modo de administración en casos de intoxicación. Hay una tendencia a internacionalizar el grado del peligro mediante el color de las etiquetas, símbolos gráficos (pictogramas) y palabras. La FAO y la Organización Mundial de la Salud han publicado una serie de boletines sobre las directrices para el registro y el control de plaguicidas, para su etiquetado y su utilización. A pesar de ello, es alarmante la falta de conciencia sobre los peligros de los insecticidas, no solamente entre los operarios sino también entre el personal técnico que dirige las operaciones agrícolas. Para hacer más crítica la situación, muchos médicos incluyendo los de zonas rurales, no están familiarizados

con las propiedades tóxicas y farmacológicas de los insecticidas modernos, con su sintomatología o con los antidotos (Klimmer, 1967; Oudejans, 1982).

La exposición del operador durante la aplicación de insecticidas depende de la forma de aplicación y del equipo que se usa. En la aplicación manual por ser una labor agotadora, resulta extremadamente incómodo para el operador usar vestidos de protección especial, máscaras y guantes de goma, como normalmente se aconseja. Sin embargo, actualmente en el comercio se encuentran ropas apropiadas más ligeras, de telas impermeables que hacen menos incómodo su uso en estas actividades. Es importante que el operario tenga facilidades para bañarse y cambiarse de ropa después de la aplicación, y nunca estar descalzo durante las aplicaciones. En aspersiones de frutales el uso de sombrero, gafas y máscara es imprescindible, sobre todo si se usan nebulizadoras. Las máscaras de los aplicadores deben tener cartuchos para ácidos orgánicos, con carbón activado, que deben cambiarse de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Young, 1986).

Residuos de insecticidas en los productos vegetales

Cuando se aplica un insecticida, cierta cantidad del producto se deposita sobre la planta. Este depósito tiende a disiparse con el tiempo, la insolación, el viento, la lluvia y la temperatura. La cantidad de insecticida o sus derivados que permanecen sobre o dentro de la planta al momento de la cosecha o de su utilización, se denominan “residuos”, y se expresan en partes por millón (ppm) del peso fresco del producto, salvo que se especifique otra cosa (NACA, 1969; Dent, 1991).

La rapidez con que se disipan los depósitos de los insecticidas en las plantas depende de varios factores (Garrido *et al.*, 2004):

Del insecticida: su naturaleza, estabilidad y tipo de formulación.

De la planta: tipo, textura de la superficie de las hojas y el tallo, velocidad de crecimiento, etc.

De las condiciones climáticas: lluvia, viento, radiación solar, que afectan la adherencia y estabilidad de los insecticidas.

En cuanto a la naturaleza de los insecticidas, existen ciertos productos que son extremadamente estables y otros que se descomponen rápidamente. El aldicarb, por ejemplo, es un compuesto que penetra a la planta y perdura por varias semanas. En cambio, el mevinfos, que también penetra y circula en el interior de la planta, se metaboliza rápidamente en pocas horas, sin dejar residuos tóxicos (Cisneros, 1974).

Niveles de tolerancia de residuos

Tolerancia es el límite máximo de residuo de un plaguicida que se permite en un producto alimenticio al momento que es ofrecido para el consumo, y que resulta de la práctica autorizada en el uso del plaguicida. La tolerancia se expresa en miligramos del residuo del plaguicida por kilogramo de peso de alimento o en partes por millón (ppm).

El cálculo de la tolerancia se basa en el conocimiento previo de la Ingesta Diaria Admisible (IDA) del producto insecticida, que es la cantidad del producto que una persona puede ingerir diariamente durante toda la vida sin correr riesgo apreciable, a juzgar por los conocimientos existentes. La IDA se expresa en miligramos del producto por kilogramo de peso de la persona (mg/kg). El cálculo de las tolerancias en los Estados Unidos se basa en la determinación del MEL (*no-ill-effect level*), modificado posteriormente a NOEL (*no-observable effect level*); para animales experimentales la IDA se define como la cantidad de insecticida que ingiere diariamente el animal sin presentar ningún síntoma y se expresa en mg/kg/día. Por consideraciones de seguridad este factor se reduce a una centésima para convertirlo en IDA para el ser humano. Con esta base se calcula la contribución teórica máxima del residuo para cada alimento. La suma total debe ser menor que la IDA. El procedimiento es distinto si se sospechan efectos oncogénicos (National Research Council, 1987).

Las Naciones Unidas, a través de la FAO y de la Organización Mundial de la Salud, al reconocer el grave peligro de los residuos en productos agrícolas, estudia el problema para establecer normas internacionales de residuos en productos alimenticios específicos. Esto se hace a través del *Codex Alimentarius* o Código Internacional de Alimentos, que se publica periódicamente desde 1963, y de otras publicaciones (National Research Council, 1987).

El sistema de tolerancias está vigente en los países industrializados desde hace mucho tiempo, conjuntamente con un eficiente sistema de fiscalización de residuos. La preocupación es constante, sobre todo por los posibles efectos cancerígenos (Ekstrom *et al.*, 1996; Schlede *et al.*, 1995).

Desde el punto de vista práctico, es posible reducir los residuos debajo de los límites de tolerancia, siguiendo las instrucciones de las etiquetas de los envases de insecticidas; sobre todo en lo que se refiere a dosis y tiempo que debe mediar entre la última aplicación y la cosecha ("período de carencia"). Pero la escasa observación de estas instrucciones hace que los consumidores en ciertos países adquieran productos, sobre todo hortalizas, en condiciones que no podrían ser comercializados en otras partes del mundo, debido a los altos residuos de insecticidas que contienen.

Clasificación de los insecticidas

Los insecticidas se clasifican de acuerdo a varios criterios y cada sistema de clasificación ayuda a caracterizar estos productos. Los principales criterios de clasificación son: 1) según la vía de ingreso del insecticida al cuerpo del insecto; 2) según su capacidad de penetrar y translocarse en la planta; 3) según su efectividad particular contra las plagas; y 4) según el origen y naturaleza química del producto (Dent, 1991; Rabb y Guthrie, 1970; Rumker y Horay, 1972). A continuación se detallan:

I. Según la vía de ingreso al cuerpo del insecto

Este criterio de clasificación es mencionado por algunos autores como "modo de acción" del insecticida, terminología que en realidad no es apropiada ya que algunos tienen varios modos de acción (Schlede *et al.*, 1995). De acuerdo a la vía de ingreso se dividen en:

- **Insecticidas estomacales o de ingestión:** Aquellos productos que penetran por el sistema digestivo; es decir que deben ser ingeridos por los insectos conjuntamente con sus alimentos naturales, como las hojas, o con sustancias preparadas formando cebos tóxicos; a este grupo pertenecen los arseniatos. Algunos autores incluyen en este grupo a los insecticidas sistémicos que son tomados por los insectos al succionar los jugos de las plantas.
- También hay otros productos como los preparados de *Bacillus thuringiensis*. Algunos insecticidas modernos además de ingresar por la boca suelen penetrar por la cutícula (Borges, 1981).
- **Insecticidas de contacto:** Aquellas sustancias capaces de atravesar la cutícula del insecto al ponerse en contacto con ella. Incluye a casi todos los insecticidas sintéticos modernos, siendo el DDT, el parathion, el carbaryl y los piretroides, los ejemplos clásicos. Algunos autores consideran dentro de este grupo a los aceites que al ponerse en contacto con el insecto lo cubren de una película aceitosa que obtura los espiráculos respiratorios, provocando la muerte del insecto por asfixia.
- **Insecticidas fumigantes:** Productos que en forma de gas penetran a través del sistema respiratorio del insecto. Ejemplo: el gas cianhídrico, el bromuro de metilo y la fosfamina.

2. Según la penetración y translocación en la planta

Cuando un insecticida se deposita sobre la superficie de la planta puede ocurrir que permanezca exteriormente, que penetre a los tejidos inmediatos, o que penetre hasta los tejidos conductores y circule con la savia (Dent, 1991; Andrews y Quezada, 1989; Cisneros, 1974).

Insecticidas superficiales

- Aquellos que depositados sobre la superficie de la planta permanecen allí sin penetrar apreciablemente a los tejidos internos. Ejemplos: arsenicales, DDT, carbaryl, piretroides.

Insecticidas de penetración o profundidad

- Aquellos que pueden penetrar y atravesar los tejidos vegetales, de manera que aplicados sobre la superficie superior de las hojas sean capaces de matar a los insectos que se encuentran dentro del tejido parenquimatoso de la hoja o en el envés. Ejemplos: parathión, iodofenós, fenitrotión, diazinón.

Insecticidas sistémicos

- Sustancias que son absorbidas por la planta y luego movilizadas a lo largo de sus órganos en concentraciones suficientes para matar a los insectos localizados en partes distantes al lugar de aplicación. Ejemplos: demeton, dimetoatos, aldicarb, metamidofos, monocrotofos, ometoato. El grado del efecto sistémico es variable según los productos y el estado fisiológico de la planta. Plantas en plena actividad, como después de un riego, absorben y translocan el producto más eficientemente.

También influyen otros factores. Hay insecticidas como el lindano, el parathion y sobre todo el metomyl, considerados no sistémicos, que aplicados como cubrimiento de semillas son absorbidos y translocados a las primeras hojas de las plántulas. Una vez que el producto sistémico ha sido absorbido pueden ocurrir tres fenómenos diferentes, según la naturaleza del producto: (a) que el producto se mantenga sin ningún cambio (producto estable o no metabolizado), como los compuestos de selenio; (b) que el producto se descomponga en metabolitos no tóxicos después de cierto período (compuestos endolíticos), como el schradan, dimefox, mevinfos; (c) que las sustancias absorbidas se transformen en productos más activos (endometatóxicos) antes de descomponerse en metabolitos no tóxicos, como el dimetoato, demeton, disulfoton, forato y fosfamidon, entre otros (Cisneros, 1974).

3. Según la efectividad particular contra grupos de insectos

Se usan diversos términos descriptivos tales como:

Aficidas: efectivos contra áfidos

Formicidas: efectivos contra hormigas

Blaticidas o cucarachicidas: efectivos contra cucarachas

Ovicidas: efectivo contra huevos de insectos y ácaros

Larvicidas: efectivos contra larvas. En entomología médica suele referirse sólo al efecto contra larvas de zancudos.

Adulticidas: efectivos contra adultos.

4. Según el origen y la naturaleza química del producto

La gran variedad de compuestos insecticidas que se usan en la agricultura se han agrupado clásicamente en: Insecticidas minerales o inorgánicos, insecticidas de origen vegetal e insecticidas orgánicos sintéticos. En los últimos años han aparecido productos que no encajan satisfactoriamente en estas categorías; entre ellos los insecticidas microbiológicos, como las toxinas del *Bacillus thuringiensis*, la abamectina que se obtiene por la fermentación de un hongo del suelo *Streptomyces avermitilis*, o los productos que imitan a las hormonas de la muda, llamados reguladores del crecimiento (Casida y Quistad, 1998).

Insecticidas minerales o inorgánicos

Son sales inorgánicas tóxicas que generalmente contienen arsénico o flúor, aunque también hay productos a base de bario, boro, cobre, mercurio, antimonio, selenio, azufre, talio y otros elementos. En general, son sustancias muy estables que actúan por ingestión. Estos productos han sido desplazados casi completamente por los insecticidas orgánicos modernos.

Insecticidas de origen vegetal

Son insecticidas que se derivan de plantas que contienen diversas sustancias, incluyendo alcaloides, que son tóxicos para los insectos. Pueden usarse como extractos o como partes de las plantas molidas en forma de polvo. La nicotina se extrae de las hojas del tabaco, las piretrinas de las flores del piretro (solo para uso casero) y la rotenona de las raíces del "barbasco" (*Lonchocarpus* spp.). Estos productos han sido desplazados por los insecticidas sintéticos aunque existe una nueva corriente para reivindicar productos derivados de las plantas. En años recientes han adquirido cierta importancia los extractos de las semillas de *Azadirachta indica*, un árbol originario de India conocido comúnmente como "nim" o "margosa". La sustancia activa es un triterpenoide (azaridachtina).

Insecticidas orgánicos sintéticos

Constituyen un grupo muy heterogéneo de compuestos orgánicos con características químicas, físicas y toxicológicas muy variables. Se les puede agrupar por su composición química. Los primeros grupos: clorados y fosforados, fueron desarrollados a partir de la década de 1940. Posteriormente, se desarrollaron los carbamatos y luego los piretroides estables. Hay grupos menores como los nitrofenoles, sulbñados, tiocianatos y formamidas. A éstos y otros compuestos que no corresponden a ninguno de los grupos mencionados se les ubica como misceláneos.

A continuación se describen brevemente los principales grupos de insecticidas orgánicos sintéticos, con ejemplos y con los nombres técnicos o genéricos para cada uno (Dent, 1995; Fairchild, 1978; Forgash, 1984; Kremlin, 1991):

Nitrofenoles y derivados. Son sustancias derivadas del cresol y del fenol, con marcado efecto fitotóxico. Algunos compuestos sólo se pueden usar como tratamientos en la época de invierno en cultivos de manzanos y otros frutales caducifolios, solos o con aspersiones de aceite. Controlan escamas, ácaros y huevos de pulgones. También tienen efecto fungicida: dinitrofenol, dinobuton, dinocap, dinoceton-O, DNOC.

Organoclorados. Son sustancias que llevan cloro en su composición y son activas porque afectan el sistema nervioso a nivel del axón. El grupo incluye insecticidas y acaricidas de contacto y toxicidad variable para el hombre. Algunos compuestos son muy estables y se acumulan en el suelo, el agua, los animales y en la grasa humana y leche materna. Por estas razones el uso agrícola de la mayoría de estos compuestos ha sido prohibido. A algunos compuestos se les ha atribuido efectos cancerígenos. Además de su uso para la protección de cultivos, el DDT y el BHC han jugado un rol muy importante para la salud humana, al controlar vectores de enfermedades por más de 30 años. En la actualidad su uso agrícola está prohibido. Los principales compuestos de este grupo son: aldrín, BHC, clorobencido, clorobenzilato, DDT, dicofol, dieldrin, endosulfán, endrín, heptacloro, lindano, metoxicloro, mirex, ovex, TDE, tetradifon, toxafeno.

Organofosforados. Son fosfatos orgánicos que afectan el sistema nervioso por su acción anticolinesterásica. La enzima colinesterasa es esencial para el control de las transmisiones entre células nerviosas. Algunos compuestos son extremadamente tóxicos y fácilmente absorbidos, por lo que su manejo entraña graves riesgos. Este grupo de insecticidas incluye productos muy variados, los hay de contacto, ingestión y efecto fumigante, sistémicos y no sistémicos, muy estables y de persistencia fugaz. La mayoría tiene un amplio espectro de acción. Los principales compuestos son: acefato, amidition, azinfos-etílico, azinfos-metilico, bomyl, carbofenotion, cianofos, clorfenvinfos, clorfoxim, clormefos, clorpirifos, clorpirifos metílico, crotoxisfos, demeton, demeton-s-metilico, demeton-s-metilico-sulfoxido, diazinon, diclofention, dicrotofos, dimefox, dimetoato, dioxabenzofos, dioxation, disulfoton, ebufos, endotion, epn, ethion, etoprop, fenamifos, fencapton, fenitroton, fensulfotion, fention, fentoato, fonofos, forato, formotion, fosalone, fosfamidon, fosfolan, fosmet, fosmetilan, foxim, hetp o tepp, heptenofos, lodofenfos, isazofos, isofenfos, isoxation, malation, mefosfolan, menazon, metamidofos, metidation, mevinfos, monocrotofos, naled, ometoato, oxideprofos, paration, paration metílico, piridafention, pirimifos-metilico, profenofos, propetamfos, protiofos, protoato, quinalfos, schradan, sophamide, sulfotep, sulprofos, temefos, terbufos, tetraclorvinfos, tiometon, triazophos, triclorfon, vamidotion.

Carbamatos. Son ésteres del ácido carbámico que inhiben la colinesterasa de manera similar a los insecticidas organofosforados. Igual que los fosforados, los carbamatos incluyen productos de características muy variables en cuanto a su toxicidad para los insectos y para los humanos, amplitud del espectro de acción, persistencia y efecto sistémico. Los principales compuestos de este grupo son: aldicarb, aldoxycarb, aminocarb, bendiocarb, butocarboxim, butoxicarboxim, carbaryl, carbofuran, carbosuan, cloetocarb, dimitan, dioxacarb, etiofencarb, fenocarb, furatiocarb, asolan, isoprocarb, landrin, mecarbam, metiocarb, mexacarbato, oxamyl, pirimicarb, promecarb, propoxur, tiocarboxima, tiodicarb, trimetacarb, xililcarb.

Piretroides. Son compuestos sintéticos que guardan alguna semejanza con las sustancias activas del piretro (ésteres de los ácidos crisantémico y piretroico). Los piretroides usados en la agricultura son los llamados fotoestables, que no se descomponen tan fácilmente como las piretrinas (naturales) y aletrinas (sintéticas). Son compuestos de una extraordinaria actividad biológica que afectan el sistema nervioso de los insectos; en algunos casos sólo se necesitan unos pocos gramos de la sustancia activa por hectárea. En general, son productos con amplio espectro de acción, notoriamente sin efecto acaricida (salvo alguna excepción); no hay productos sistémicos, su acción es por contacto, con efectos paralizantes. La mayoría de piretroides son poco tóxicos para el hombre y otros animales de sangre caliente, por lo que su uso se ha extendido contra plagas caseras y de salud pública. Los principales compuestos de este grupo son: aletrina, alfacipermetrina, alfa metrina, bartrina, beta-cyflutrina, bifentrina, bioaletrina, bioresmetrina, biopermetrina, cismetrina, cyletrina, cyflutrina, cypermetrina, deltametrina, d-fenotrina, d-tetrametrina, dimetrina, esbiol, esfenvalerato, fenotrina, fenpropanato, fenvalerato, flucitrinato, fluvalinato, furetrina, indotrina, lambdaci halotrina, permetrina, phthaltrina, resmetrina, teflutrina, tetrametrina, tralometrina.

Sulfonados. Son compuestos con actividad contra ácaros, los principales compuestos son: aramite, clorbensido, clorfenson, clorofenson, clorfensulfuro, fenson, fluorbensido, genite, propargito, tetradifon, tetrasul.

Misceláneos. Compuestos muy diversos en su estructura química y en sus características toxicológicas, incluye compuestos relativamente antiguos y productos modernos. La mayoría tiene efectos acaricidas. Entre los más importantes están: abamectina, azocyclotin, bromopropilato, clorfenetol, clorobencilato, clorofenamidina, cloropropilato, cyhexatin, dicofol, dienoclor, fenbutatin, oxitioquinox, oxytane, tranid.

Insecticidas hormonales y reguladores de crecimiento (IGR). Es un grupo de sustancias que están relacionadas químicamente o funcionalmente (bioanálogos) con dos hormonas que producen los insectos para regular su crecimiento y metamorfosis: la hormona de la muda o **ecdisona** y la hormona juvenil o **neotenina**. La hormona juvenil predomina en los estados inmaduros y tiende a mantener al insecto en su forma larval o ninfal. Las sustancias sintéticas que tienen efectos similares se llaman **juvenoides** y evitan que el insecto alcance el estado adulto.

Por otro lado la ecdisona interviene en el proceso de muda o **ecdisis** que consiste en el cambio periódico de la cutícula del insecto y permite su crecimiento y metamorfosis. La cutícula vieja endurecida se desprende y se forma una nueva cutícula, que inicialmente es elástica y permite el crecimiento del insecto hasta que se endurece. Durante el proceso hay absorción y depósito de quitina. Algunos compuestos interfieren en la formación de la nueva cutícula y el proceso de muda en general, causando el crecimiento anormal del insecto y su muerte. Estos productos llamados reguladores de crecimiento de los insectos constituyen la generación más moderna de insecticidas. Son sustancias poco tóxicas para los vertebrados y se les considera poco dañinas para el medio ambiente. Entre estas sustancias se encuentran:

Ecdisona u hormona de la muda
Neotenina u hormona juvenil
Juvenoides o bioanálogos de la neotenina
Hidroprene
Kinoprene
Methoprene
Triprene

Reguladores de crecimiento no juvenoides:

Diflubenzuron
Cyromazina
Fenoxicarb
Flufenoxuron
Teflubenzuron
Triflumuron

Consideraciones en la formulación de insecticidas

Cuando se compra un insecticida lo que se adquiere es una **formulación comercial**, es decir un preparado especial que está listo para ser utilizado en forma directa o previa dilución en agua. El producto puede tener la forma de polvo, gránulos o líquido. Una misma sustancia insecticida puede presentarse en el mercado bajo diferentes formulaciones comerciales. La riqueza de la formulación comercial está determinada por la cantidad de ingrediente activo o de producto técnico que contenga (Young, 1986). Estos conceptos se explican a continuación (García, 1999; Pérez, 1989):

Ingrediente activo y producto técnico. El ingrediente activo (i.a.) llamado también materia activa o sustancia activa, es el insecticida químicamente puro y posee una denominación química definida. El ingrediente activo del DDT, por ejemplo, es el isómero para dicloro difenil tricloroetano y el ingrediente activo del parathión es dietilnitrofenilfosforotiato. En la fabricación industrial de los insecticidas, sin embargo, el producto no se obtiene químicamente puro sino más bien acompañado de algunas impurezas y sustancias relacionadas, propias del proceso de producción en gran escala. A este producto industrial se le llama **producto técnico o materia técnica** y constituye la base para la producción de las formulaciones comerciales. A los productos técnicos normalmente se les fijan ciertos grados o límites mínimos de pureza. El producto técnico del endrin, por ejemplo, contiene alrededor del 85% de ingrediente activo. En el caso de los fosforados, carbamatos y otros productos, la pureza del producto técnico suele ser más alta (Klimmer, 1967).

El producto técnico puede presentar un estado físico distinto al del ingrediente activo puro. Así, el dimetoato químicamente puro es un sólido blanco, en cambio el producto técnico es un líquido de apariencia aceitosa de color pardo amarillento. El parathion metílico puro es un polvo cristalino blanco, mientras que el producto técnico, que contiene alrededor de 80% de i.a., es un líquido pardo (Klimmer, 1967).

Formulación comercial

El producto técnico constituye la materia prima en la formulación comercial de los insecticidas, proceso que se realiza en las plantas formuladoras. La materia técnica que puede ser líquida, sólida o pastosa, con frecuencia es insoluble en agua. De allí que no sea posible su dilución directa, para ser distribuida en el campo. Se requiere de preparados especiales que superen esta limitación. Los preparados especiales que permiten la dilución del insecticida y su distribución, son las formulaciones comerciales (García, 1999; Pérez, 1989).

Cuando se trata de polvos para espolvorear o de insecticidas granulados, las formulaciones comerciales normalmente vienen listas para ser aplicadas en forma directa en el campo. En casos excepcionales, el producto técnico líquido se utiliza en forma directa sin dilución en agua (aplicaciones de ultrabajo volumen). Pero lo común es que los concentrados líquidos y polvos se diluyan en agua para su aplicación.

Tipos de formulaciones

Las formulaciones comerciales de los insecticidas se caracterizan por el tipo de formulación y por su contenido de ingrediente activo. Un mismo producto insecticida puede presentarse bajo diversas formulaciones comerciales (Rumker y Horay, 1972; García, 1999; Pérez, 1989).

Los tipos convencionales de formulaciones son:

Concentrado Emulsivo, C.E.
Concentrado Soluble, C.S.
Polvo Mojable, P.M.
Polvo Soluble, P.S.
Polvo seco, P.
Granulado, G.
Cebo Tóxico, Cebo

En años recientes se han introducido algunas formulaciones especiales que mejoran las características de las formulaciones convencionales. Entre ellas están las siguientes:

Microencapsulados
Suspendidos líquidos
Gránulos dispersables
Concentrados para ultrabajo volumen
Emulsiones invertidas
Peletizados
Paquetes solubles

Ayudantes o coadyuvantes para las formulaciones

Todas las formulaciones comerciales, pero sobre todo las que se diluyen en agua, contienen sustancias que mejoran las características físicas del producto, haciendo posible su dilución y aplicación y mejorando su efectividad. Entre ellas están los **solventes** y las **sustancias ayudantes**. Existen solventes volátiles como el tolueno y el xileno, y solventes no volátiles como los aceites de petróleo y derivados afines. Los ayudantes afectan la eficiencia del insecticida, mejorando la uniformidad y estabilidad de las diluciones y favoreciendo el depósito, permanencia y penetración de los insecticidas, en la planta y en los insectos. Cierta cantidad de ayudantes están incorporados en la formulación comercial; pero también se pueden adquirir por separado para ajustar las cualidades de la aspersión a las condiciones particulares de la planta o del clima de una localidad (García, 1999; Pérez, 1989).

Entre los principales ayudantes están los adherentes, mojantes, dispersantes, esparcidores, emulsificantes y estabilizantes (García, 1999; Pérez, 1989):

- Los **adherentes o adhesivos** son sustancias que “retienen” el insecticida sobre la superficie de la planta, resistiendo al viento, la lluvia y otros factores adversos del ambiente. Entre las sustancias clásicas se encuentran las materias proteínicas como la caseína de la leche, la harina de trigo, la albúmina de la sangre y la gelatina. Hay sustancias de otra naturaleza como aceites, gomas, resinas y arcillas finas. Los productos adherentes comerciales modernos suelen poseer también características mojantes y esparcidoras. Algunas de estas sustancias son sales o alcoholes sulfatados, ésteres de ácidos grasos, sulfonatos del grupo alquilo y sulfonatos de petróleo.
- Los **mojables** son sustancias que bajan la tensión superficial de modo que el líquido se extiende sobre la superficie de la planta. Entre estas sustancias se encuentran los alcoholes de cadenas largas, sulfonatos de petróleo, sulfatos ácidos y derivados, derivados de sulfonatos aromáticos, ésteres de ácidos grasos y arcillas. Se recomiendan para plantas con follaje ceroso.
- Los **dispersantes** son sustancias que reducen la cohesión o la tendencia de las partículas a adherirse entre sí, facilitando en dispersión en el agua. Las sustancias dispersantes se utilizan en la preparación de los polvos mojables y concentrados emulsivos. Estos ayudantes están relacionados con los agentes defloculantes, que son sustancias que ayudan a producir y mantener las suspensiones de los polvos mojables.

- Los **esparcidores** ("spreaders") son sustancias que adelgazan la película de un líquido sobre la superficie de la planta aumentando el área que cubre.
- Los **emulsivos** son sustancias que ayudan a la formulación y mantenimiento de las emulsiones; es decir, a la dispersión de pequeñas gotitas de un líquido aceitoso dentro del agua con la cual no es miscible. Se utiliza en la preparación de concentrados emulsivos. Los emulsivos, como los demás agentes tensoactivos, se pueden clasificar en:

No iónicos:

Ésteres hidrofóbicos.

Ésteres hidrofílicos.

Iónicos:

Aniónicos: jabones alcalinos, alcoholes sulfonados del grupo arilo o alquilo, mojantes y detergentes, en general.

Catiónicos: sales de amonio cuaternario.

Los agentes no iónicos están indicados para aguas duras y van adquiriendo mayor importancia por no reaccionar con los insecticidas. Los aniónicos son indicados para aguas blandas. Los catiónicos no son usados en las formulaciones de insecticidas por resultar caros. En la mayoría de los insecticidas comerciales se usan mezclas de agentes no iónicos y aniónicos.

Los estabilizantes son sustancias que sirven para retardar la descomposición de los insecticidas y prolongar su efectividad.

Existen otros adyuvantes como activadores penetrantes, correctivos de pH, controladores de espuma, etc.

Adyuvantes comerciales. Para mejorar las características de las aplicaciones líquidas de los insecticidas se venden sustancias que tienen efecto polivalente como adherentes, dispersantes y mojantes que se adicionan a las diluciones acuosas de los insecticidas comerciales. Estos productos se usan generalmente en concentraciones de 25 a 50 cc/100 L de mezcla insecticida.

Uso de las diferentes formulaciones

Un mismo insecticida puede presentarse en diferentes tipos de formulaciones y cada formulación tiene ciertas características que permiten el mejor uso del producto para determinadas condiciones. Por lo tanto, se deben tener en cuenta los siguientes aspectos (Andrews y Quezada, 1989; Cisneros, 1974; García, 1999; Pérez, 1989):

La posible fitotoxicidad, en relación con la planta que va recibir el insecticida, también se debe tener en cuenta si la superficie es cerosa, lisa o pubescente, y la densidad del follaje.

Utilizar el equipo de aspersión más adecuado para la aplicación.

Tener presente los riesgos de deriva del insecticida por el viento, escurrimiento y lavado, hacia áreas adyacentes.

La seguridad de los operadores y otras personas y animales domésticos que pudieran estar expuestos al producto.

Las características de la plaga, como su movilidad, momento oportuno de aspersión de acuerdo con su biología y a la fenología de la planta.

La relación costo/beneficio que hace el tratamiento viable.

Según estas consideraciones, la decisión final puede ser la aplicación de un insecticida en forma líquida en aspersión, un polvo para espolvoreo o un granulado. Las formulaciones que se usan para estos fines se describen a continuación:

1. Concentrados emulsivos. El concentrado emulsivo es un líquido de aspecto aceitoso que al ser mezclado con el agua forma una emulsión. La dilución generalmente es muy estable y requiere poca agitación. Se aplica en aspersión. Esta formulación se obtiene disolviendo el producto insecticida y un agente emulsivo en un solvente orgánico. También se usan otras sustancias adyuvantes para mejorar los depósitos en la planta (García, 1999; Pérez, 1989).

Debe tenerse presente que el exceso de adyuvantes tensoactivos es contraproducente, pues facilita el escurrimiento y el lavado del producto, y provoca la formación de abundante espuma que dificulta el sistema de alimentación de la aspersora. Esto último puede ocurrir cuando se usan diluciones muy concentradas en lugar de los caldos diluidos, para los cuales han sido calculadas las cantidades de adyuvantes.

Los concentrados emulsivos tienen las siguientes ventajas: altas concentraciones de ingrediente activo por lo que su precio relativo puede ser favorable, es fácil de transportar y almacenar, requiere poca agitación para mantener la mezcla uniforme, no es abrasivo para el equipo de aplicación, no se sedimenta, no obstruye las boquillas, no deja residuos visibles sobre la superficie de frutas y verduras.

Sus desventajas son: por su alta concentración en ingrediente activo los errores de medida se magnifican fácilmente; por lo general, son más fitotóxicos, penetran más fácilmente por la piel, los solventes pueden dañar las partes del equipo de aplicación.

2. Concentrados solubles. Pocos productos insecticidas tienen su materia técnica líquida y soluble en agua. Con la adición de algunos adyuvantes se obtiene la formulación de Concentrado Soluble. Disuelto en agua se forma una solución uniforme que no requiere agitación. Las características mencionadas para los concentrados emulsivos se aplican también para los concentrados solubles (García, 1999; Pérez, 1989).

3. Polvos mojables. Los polvos mojables tienen el aspecto de polvos finos, pero son concentrados que al ser mezclados con el agua forman suspensiones. Estas suspensiones son aplicadas en forma de aspersiones o pulverizaciones. Los polvos mojables contienen sustancias humectantes y dispersantes, y bases inertes que les permiten suspenderse en el agua, como el caolín, talco y carbonato de calcio. La bentonita tiene la más alta capacidad de suspensión pero tiende a recubrir la sustancia activa, con lo que disminuye la eficacia de la formulación.

Los polvos mojables tienen las ventajas de su costo relativamente menor, facilidad de manejo, transporte y almacenamiento, menor fitotoxicidad que los concentrados emulsivos, son fáciles de medir y mezclar, y son de menor absorción por la piel, que los concentrados emulsivos. Las desventajas son: mayor peligro de inhalar los polvos concentrados en el momento de la medición y mezcla, requiere constante agitación en el tanque, es abrasivo para las bombas y boquillas, y los residuos se hacen visibles fácilmente (García, 1999; Pérez, 1989).

4. Polvos solubles. En los pocos casos en que la materia técnica es un compuesto soluble en agua, es posible obtener un polvo que pueda disolverse directamente en el agua. Aún en estos casos se requieren adyuvantes que faciliten el mojado de la planta. No se requiere agitación una vez que la solución está uniforme.

5. Microencapsulado. Es una formulación especial en que las partículas insecticidas sólidas o líquidas, están rodeadas por una cobertura plástica. Mezclado con el agua forma una suspensión que se aplica en aspersión. El encapsulado permite que el insecticida sea liberado paulatinamente y su efecto residual sea mayor. Además, tiene la ventaja de ser menos riesgosa para el personal que realiza la aplicación. Requiere agitación constante.

6. Suspendibles líquidos. Es un nuevo tipo de formulación líquida que contiene en suspensión gránulos finos del ingrediente activo. Estos concentrados se diluyen en agua para su aplicación en aspersiones. Tienen las ventajas de ser fáciles de manejar y raramente obturan las boquillas; su desventaja es que requiere cierta agitación y puede dejar residuos visibles.

7. Gránulos dispersables. Son gránulos que se dispersan en agua formando una suspensión, como los polvos mojables, para aplicarlos en aspersiones. La ventaja sobre los polvos mojables es que tienen menos riesgo de ser inhalados y son más fáciles de medir, verter y diluir. También requieren agitación.

8. Paquetes solubles. Son formulaciones especiales para reducir los riesgos de manejar productos altamente tóxicos. Son paquetes plásticos que contienen polvos mojables o polvos solubles y que se disuelven al ser echados en el agua. La mezcla se asperja como cualquier mezcla insecticida.

9. Ultrabajo volumen. Es una formulación líquida que se aplica concentrada, tal como se vende o ligeramente diluido en un líquido que no es agua. Se aplica en aspersión con un equipo especial de ultra bajo volumen (UBV).

10. Polvos para espolvoreo. El producto insecticida se presenta en forma de polvo fino, frecuentemente coloreado para evitar su confusión accidental con harinas comestibles. Se distinguen los “polvos secos concentrados” de los “polvos secos diluidos”. Los polvos concentrados necesitan ser diluidos antes de ser aplicados, mientras que los polvos diluidos se aplican directamente en el campo (espolvoreos). Ambas formas se venden en el mercado, pero es preferible comprar los polvos diluidos.

Los inertes que se utilizan comúnmente en la preparación de polvos secos son el talco, la pirofilita, las arcillas, el carbonato de calcio, el silicato sintético de calcio y el atapulgito. Los polvos tienen la ventaja de penetrar fácilmente entre el follaje y la desventaja de ser fácilmente llevados por el viento con poca retención sobre la superficie de la planta.

11. Granulados. Para algunos casos especiales, los insecticidas pueden formularse en forma granulada. En estas formulaciones el insecticida va absorbido o adherido a la superficie de gránulos de un inerte, en una concentración que permite su aplicación directa. Con la formulación granulada se disminuyen apreciablemente los riesgos de intoxicación accidental y contaminación, facilitando la aplicación dirigida del producto. Los granulados se emplean en casos específicos como la incorporación de insecticidas al suelo, la aplicación de larvicidas contra zancudos, o para el control de insectos del maíz y otras plantas gramíneas que pueden retener los gránulos entre sus hojas.

12. Peletizados. Formulación similar a los granulados pero de mayor tamaño, siendo los *pellets* más uniformes en peso y forma.

13. Cebos tóxicos. Los cebos tóxicos son mezclas de insecticidas u otros plaguicidas con alimento u otras sustancias atrayentes. Muchos de los cebos que se utilizan en la agricultura se preparan en el campo; sin embargo algunos productos se venden como cebos ya formulados.

Literatura citada

- ANDREWS, K. L.; QUEZADA, J. R. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: Estado actual y futuro. Departamento de Protección Vegetal, Escuela Agrícola Panamericana “El Zamorano”, Honduras, 623 p.
- BARRONS, K. C. 1981. Are pesticides really necessary? Regnery Gateway, Inc. Chicago, Illinois, 245 p.
- BEINGOLEA, Ó. 1958. Resistencia de los insectos a los insecticidas, con ejemplos en el Perú. Rev. Peruana de Entomol. Agric., 1 (1): 51-58.
- BENNETT, S. A. 1957. The behavior of systemic insecticides applied to plants. Ann. Rev. Entomol., 279-296.

- BROWN, A. W. A. 1959. Inheritance of insecticide resistance and tolerances. Symp. Research Progress on Insect Resistance. Misc. Publ. Entomol. Soc. Amer., p. 20-26.
- BURGES, H. D. 1981. Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. London, Academic Press, 949 p.
- CASIDA, J. E.; QUISTAD, G. B. 1998. Golden age of insecticide research: past, present and future. Annu. Rev. Entomol., 43: 1 – 16.
- CISNEROS V., F. 1974. Principios de control de plagas. Parte II, Departamento de Sanidad Vegetal, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. 346 p.
- CREMLYN, R. J. W. 1991. Agrochemicals. preparation and mode of action. John Wiley and Sons. Chichester, GB. 396 p.
- DENT, D. 1991. Insect pest management. CAB International, Wallingford, UK, 604 p.
- DENT, D. 1995. Integrated pest management. Chapman & Hall, London, 356 p.
- EDWARDS, C. A. 1970. Persistent pesticides in the environment. Cleveland, Ohio, CRC Press, Vol 1, No. 1, 78 p.
- EKSTRÖM, G.; HEMMING, H.; PALMBORG, M. 1996. Swedish pesticide risk reduction 1981-1995: food residues, health hazard, and reported poisonings. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 147: 119-47.
- FAIRCHILD, E. J. 1978. Agriculture and pesticides. A handbook of the toxic effects. Castle House, London, 229 p.
- FORGASH, A. J. 1984. History, evolution and consequences of insecticide resistance. Pestic. Biochem. Physiol., 22: 178-186.
- GARCÍA, J. E. 1999. Formulaciones de plaguicidas: importancia, tipos y perspectivas futuras. Tecnología en Marcha, 13 (2): 44-60.
- GARRIDO, A.; MARTÍNEZ, J. L.; LÓPEZ, T.; CORTÉS, S.; MARTÍNEZ, I. 2004. Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography, 1048: 199-206.
- GEORGHION, G. P.; TAYLOR, C. E. 1986. Factors influencing the evolution of resistance. In: Pesticide resistance, strategies and tactics for management. National Research Council, Board of Agriculture. Eds. National Academic Press. Washington D.C. p. 157-169
- HERRERA, J. 1958. Resistencia de ciertas plagas del algodónero a los insecticidas orgánicos en el valle de Cañete. Rev. Peruana de Entomol. Agric. 1 (1): 47-51.
- JEPSON, P. C. 2000. Pesticides and IPM: Concepts and reality. In: Emerging technologies for integrated pest management. Concepts, research, and implementation, ed., Kennedy, G. G. & Sutton, T. B. Proceedings of a conference, march 8 – 10, 1999, Raleigh, N. C.. APS Press, St. Paul, Minnesota, p. 307 – 322.
- KLIMMER, O. R. 1967. Plaguicidas, lexicología, sintomatología y terapia. Oikos-Tau. S.A. Ediciones Barcelona. España. 162 p.
- MARCH, R. B. 1959. Resistance to organophosphorus insecticides, Symp. Research Progress on Insect Resistance. Misc. Publ. Entomol. Soc. Amer. Washington, D.C. 13-19.
- MAREDA, K. M.; DAKOUO, D.; MOTA – SÁNCHEZ, D. 2003. Integrated pest management in the global arena. Cabi Publishing, Wallingford, UK, 512 p.
- MOOREFIELD, H. H. 1959. Insect resistance to the carbamate insecticides. Symp. Research Progress on Insect Resistance. Misc. Publ. Entomol. Soc. Amer., p. 145-152.
- NAC. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. 1968. Effects of pesticides on fruit and vegetable physiology. Principles of plant and animal pest control. Washington. Vol. 6, 90 p.
- NACA. NATIONAL AGRICULTURAL CHEMICALS ASSOCIATION. 1969. Official F.D.A. Tolerance. News and Pesticide Review. Washington, 27 (3). 31 p.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. BOARD OF AGRICULTURE. 1987. Regulating pesticides in food. The Delaney Paradox. National Academy Press, Washington D.C., 272 p.
- OUDEJANS, J. H. 1982. Agro – pesticides- Their management and application. Economic and social commission for Asia and the Pacific, Bangkok, 205 p.
- PÉREZ, L. 1989. Aspectos sobre formulación de plaguicidas. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Barquisimeto. Estación Experimental Lara. Barquisimeto (Venezuela). Vol.1, 12 p.
- RABB, R. L.; GUTHRIE, F. E. 1970. Concepts of pest management. Proceedings of a conference held at North Carolina State Univ. at Raleigh, march 25-27, 242 p.
- RUMKER, R. V.; HORAY, F. 1972. Pesticide manual. Department of state Agency for International Development. Kansas, 358 p.
- SCHLEDE, E.; MISCHKE, U.; DIENER, W.; KAYSER, D. 1995. The international validation study of the acute toxic class method (oral). Arch. Toxicol., 69 (10): 659-670.
- TAIT, J.; NAPOMPETH, B. 1987. Management of pests and pesticides. Farmer's perceptions and practices. Westview Press, London, 244 p.
- YOUNG, B. W. 1986. The need for a greater understanding in the application of pesticides. Outlook on agriculture, 15: 80 – 87.



CAPÍTULO 12

Tecnología de aplicación y equipos de aspersión de agroquímicos

Diógenes Alberto Villalba Guott

Introducción

El cultivo del café en Colombia, no ha sido un cultivo con tradición en la aplicación de plaguicidas. Sin embargo, con la llegada de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk. y Br.) a Brasil, en el año 1970, se iniciaron las investigaciones sobre la tecnología de aplicación y los equipos de aspersión en el Centro Nacional de Investigaciones de Café, con el fin de desarrollar una tecnología de aplicación y equipos de aspersión adecuados para realizar aplicaciones en el cultivo del café bajo las condiciones de la zona cafetera colombiana y de esta forma, poder contar con alternativas para el control de problemas fitosanitarios, tales como: la roya y la broca del café, entre otros.

La broca del café, introducida a Colombia en 1988, amenaza seriamente la caficultura colombiana, debido a las condiciones en la cual se desarrolla, como son: zona cafetera continua, altas densidades de siembra, topografía de difícil acceso para realizar el control y condiciones de clima que favorecen una fructificación de los cafetales durante gran parte del año, hacen que en la zona cafetera colombiana el ataque de este insecto sea más severo que en cualquier otra parte del mundo cafetero (Bustillo *et al.*, 1988).

El control de la broca del café se debe enfocar bajo un programa de manejo integrado, que comprende el conocimiento a fondo de todos los factores que componen el ecosistema cafetero y sus múltiples interacciones, éstas son: la fenología del cultivo en las diversas zonas cafeteras y la biología, el comportamiento, el potencial de reproducción, la dispersión y los enemigos nativos de la broca (Bustillo *et al.*, 1988).

Además, este programa debe incluir prácticas agronómicas y culturales, control biológico y como último recurso el control químico, el cual sólo se debe utilizar cuando se justifique técnicamente, teniendo como base los períodos de floración del cultivo y los niveles de infestación de la plaga (Bustillo *et al.*, 1988).

En la gran mayoría de la zona cafetera colombiana, la tecnología de aplicación y los diferentes equipos de aspersión se vienen utilizando deficientemente, ocasionando problemas como el incremento del volumen y número de aplicaciones, el aumento de las dosis de los insecticidas y la baja eficacia de los mismos. Esta situación, ocasiona mayor contaminación del ecosistema cafetero y de los operarios que realizan las aplicaciones, además de presionar a la plaga para que adquiera resistencia a los productos químicos e incrementar los costos de las aplicaciones.

Tecnología de aplicación

La tecnología de aplicación se define como la correcta aplicación de un producto biológico y/o químico para el control de un problema fitosanitario, que puede ser: un insecto plaga, una enfermedad y/o una arvense. Ahora bien, para obtener buena eficacia (> al 75%) de la aplicación de un plaguicida, ésta se debe realizar teniendo como base los siguientes aspectos: aplicar en el momento oportuno, empleando una dosis correcta y con una adecuada calibración de los equipos de aspersión, con el fin de depositar el volumen por

árbol adecuado y obtener buenos cubrimientos (mayores de 50 gotas/cm²) y tamaños de gota entre 150 y 200 μ m. En general, se puede concluir que el éxito biológico de cualquier control fitosanitario depende en gran parte de la tecnología de aplicación.

Los resultados de las investigaciones en Cenicafe sobre tecnología de aplicación y equipos de aspersión, han permitido disminuir los volúmenes de aplicación de 1.000 a 250 L/ha y definir los diferentes sistemas de aplicación y los equipos de aspersión más adecuados y eficientes para el control de problemas fitosanitarios en el cultivo del café (Villalba, 1992).

Principios básicos sobre tecnología de aplicación

Propiedades físicas de las gotas

El fin de todos los métodos y sistemas de aplicación es la distribución uniforme del ingrediente activo sobre el objetivo, el cual puede ser: un insecto, un hongo, una planta y/o el suelo.

El ingrediente activo necesario por unidad de superficie, en la mayoría de los casos, es mínimo y puede fluctuar entre unos pocos hasta miles de gramos por hectárea. Técnica y prácticamente, es imposible lograr una distribución uniforme con cantidades tan pequeñas de estos ingredientes, razón por la cual hay que recurrir a agentes o medios de dilución (diluyentes). El diluyente más usado es el agua y en algunos casos específicos los aceites agrícolas. En general, la gota es el vehículo o medio de transporte más adecuado para llevar el ingrediente activo a su objetivo (Ciba Geigy, 1985).

El cubrimiento (número de gotas/cm²) determina más del 80% del éxito biológico de una aplicación. Esto explica la importancia que se le atribuye a la gota, en relación con su tamaño, peso específico y susceptibilidad a la evaporación, como portadora del ingrediente activo.

Medidas y criterios para la clasificación de las gotas

Medidas y fórmulas

El tamaño de la gota está dado por el diámetro medido en micras (μ m), que es igual a 0,001 mm. El volumen de una gota se calcula utilizando la fórmula:

$$V = \frac{4}{3} \pi R^3$$

Como se mencionó anteriormente, la eficacia de un tratamiento depende en alto grado del cubrimiento obtenido en la aplicación. Esto se explica por la relación existente entre el número de gotas, su tamaño, distribución y la cantidad de ingrediente activo necesario por unidad de superficie, para alcanzar el efecto deseado (Ciba Geigy, 1985).

Diámetro medio volumétrico (VMD)

La propiedad fundamental de una aplicación es la gota, y de ésta su diámetro. El diámetro medio volumétrico (VMD) se puede definir como: el diámetro de la gota, que divide un espectro de aplicación en dos partes iguales, en el cual la mitad del volumen del líquido aplicado está constituido por gotas de un diámetro superior a ella y la otra mitad por gotas de un diámetro inferior. En otras palabras, es el tamaño de gota de un espectro que divide el volumen de aplicación en dos mitades iguales (Mathews, 1979).

Es importante anotar que entre menor sea el tamaño de las gotas, mayor cantidad de ellas se depositarán por unidad de superficie. Por ejemplo: Si consideramos un cubo de 600 micras como representante de una gota en una aplicación a alto volumen (400 L/ha) y lo dividimos en pequeños cubos de 300 micras, se puede obtener una disminución de ocho veces el volumen de líquido aplicado, así:

VMD: 600 micras: Vol: 400 L/ha

VMD: 300 micras: Vol: $400 / 8 = 50$ L/ha

Con base en esta propiedad, se han realizado aplicaciones a bajo y ultra bajo volumen, con un incremento del número de gotas por unidad de superficie, con mayor rendimiento y menores consumo de agua y tiempo de aplicación.

En términos prácticos, se puede apreciar que una gota de 300 micras equivale a 216 gotas de 50 micras, que cubren un área considerablemente mayor que una sola gota de 300 micras, y que por lo tanto mejoran la distribución y la penetración de las gotas en las partes internas de las plantas, con un incremento en la eficacia del producto aplicado.

Cuando se utilizan volúmenes de aplicación entre 200 y 500 L/ha y boquillas hidráulicas, se producen gotas de diferentes tamaños, las cuales pueden variar entre 20 y 1.000 μm , aproximadamente.

En general, para la aplicación de productos biológicos y/o químicos, se pueden utilizar tamaños de gota entre 150 y 300 μm , dependiendo del equipo de aspersión, la formulación del plaguicida y las condiciones climáticas (Villalba 2003).

Matthews (1979) presenta una clasificación del tipo de aplicación de acuerdo con el tamaño de la gota (Tabla 12.1).

Tabla 12.1. Clasificación de las aplicaciones en relación con el tamaño de gota (Tomado de Matthews, 1979).

Tamaño de gota (μm)	Clasificación
Menor de 50	Aerosol
51 - 100	Neblina
101 - 200	Aspersión fina
201 - 400	Aspersión media
Mayor a 400	Aspersión gruesa

Cubrimiento

El cubrimiento se puede definir como el número de gotas por unidad de área (No. de gotas / cm^2) que llegan al objetivo, lo cual indica la cantidad de ingrediente activo depositado en las diferentes partes de la planta. El cubrimiento depende del diámetro de las gotas, lo cual quiere decir que entre menor sea el tamaño de éstas, mayor será el cubrimiento y por lo tanto, mejor la eficacia biológica de las aplicaciones.

En términos generales, para obtener buena eficacia biológica de las aplicaciones de insecticidas y fungicidas, se deben obtener cubrimientos mayores a 50 gotas/ cm^2 , y de herbicidas entre 20 y 40 gotas/ cm^2 .

Distribución de una aspersión

La distribución se puede definir como el cubrimiento obtenido en los diferentes estratos de la planta (alto, medio, bajo), cuando se realiza una aplicación. La distribución varía, dependiendo no solo de la localización de las hojas y/o frutos en las plantas, sino también de su posición (interna y/o externa) por la haz y/o envés de las hojas, del equipo de aspersión, del sistema de aplicación y de las condiciones ambientales.

Los factores relacionados con el equipo de aspersión son: el volumen de aplicación, el tamaño de gota y el tipo de boquillas. Entre menor volumen se utilice por unidad de área, menor será el tamaño de gotas y mejor la distribución.

En relación con la planta, es importante tener en cuenta aspectos como la distancia y densidad de siembra, la altura de las plantas y el tamaño y densidad del follaje.

Los factores climáticos como: temperatura, humedad relativa, velocidad y dirección del viento, juegan un papel muy importante en la distribución de las gotas (Villalba, 2003).

Penetración

Si las gotas se dispersan en una masa de aire en movimiento cada una tiene su propio momento. El momento se puede definir como la fuerza resultante de la velocidad y el tamaño de la gota, por lo tanto las gotas grandes tienen un mayor momento.

Las gotas con mayor momento se depositan más rápidamente sobre las partes externas de las plantas y son las que normalmente se deslizan sobre las superficies de las hojas o frutos y caen al suelo. Por esta razón, las gotas pequeñas se depositan en las hojas y/o frutos más internos de los árboles, y mejoran la eficacia de los productos.

Ancho de faja

Se puede definir como el área cubierta por una aplicación con una densidad de cobertura igual o mayor a 50 gotas/cm². Cuando se realiza una aplicación con gotas grandes, el ancho de faja disminuye, ya que éstas por su tamaño y peso, se distribuyen en una superficie menor, a diferencia si son de menor tamaño, las cuales pueden distribuirse más uniformemente en un área mayor.

Evaluación de una aplicación

Una aplicación se puede evaluar física y/o biológicamente.

Evaluación física

Se basa en la determinación de los parámetros físicos de las aplicaciones, tales como: cubrimiento (número de gotas/cm²), tamaño de gota (VMD), penetración, distribución y depósito del ingrediente activo. La ventaja de la evaluación física es la rápida disponibilidad de los resultados con el fin de poder realizar los cambios y/o ajustes necesarios, para alcanzar los objetivos propuestos. La evaluación física se puede realizar sobre partes de la planta (hojas y/o frutos) o sobre colectores (tarjetas). La evaluación sobre partes de las plantas se realiza utilizando trazadores fluorescentes, tales como: Lumogen, amarillo saturno o uvitex. Estos productos se utilizan generalmente en una concentración del 0,5 al 1% y la evaluación, se lleva a cabo retirando las hojas y/o ramas con frutos de los árboles y observándolos bajo una lámpara de luz ultravioleta. La evaluación sobre colectores (tarjetas), se realiza utilizando diferentes tipos de colectores dependiendo: del volumen de aplicación, la formulación y el colorante. Los colectores más utilizados en técnicas de aplicación son:

Papel kromacote: es uno de los colectores más utilizados en técnicas de aplicación en café y otros cultivos. Este papel presenta una superficie rugosa y una lisa, esta última debe quedar expuesta a la aplicación. Se puede usar en cualquier humedad relativa, pero se necesita adicionar un colorante a la mezcla, para lo cual se usa, generalmente, el azul de metileno técnico al 1%, o cualquier otro tipo de colorante como el rojo congo o el azul maxilon.

Con este colector se puede determinar el cubrimiento (No. de gotas/cm²), el tamaño de gota (VMD) y la distribución y penetración de la aplicación. El tamaño del colector para evaluar las aplicaciones depende del cultivo, el problema fitosanitario y el equipo de aspersión.

Las principales ventajas son: su fácil adquisición y bajo costo, además se puede guardar después de usarlo por largos períodos, sin que las gotas se borren o deformen, pero tiene como desventaja, que se debe utilizar siempre un colorante que contraste con el color blanco de la tarjeta, para realizar la evaluación.

Papel hidrosensible: Este colector es de color amarillo y al entrar en contacto con una solución acuosa se torna azul oscuro. Es muy útil para realizar evaluaciones rápidas en el campo, chequear patrones de aspersión de boquillas, distribución, número de gotas/cm² y tamaño de gota, etc. Las evaluaciones se pueden realizar visualmente y/o utilizando lupas de diferentes aumentos. Tiene como ventaja que no requiere ningún

colorante para su utilización y además, se pueden realizar todas las evaluaciones físicas de una aplicación, pero presenta las siguientes desventajas:

- No se puede utilizar en condiciones de alta humedad relativa o días lluviosos.
- Se deben manipular con delicadeza, ya que se pueden dañar con facilidad.
- Son de difícil adquisición y muy costosos.
- No se pueden guardar por largos períodos, porque las gotas pueden borrarse o distorsionarse.

Papel sensible a aceite CF-1: Este colector es rígido y blanco grisáceo, cubierto con una capa delgada de cera. La superficie cerosa se disuelve cuando las gotas con base en aceite, impactan sobre la superficie del colector, y éstas se tornan negras contrastando con el fondo blanco del colector. Es muy utilizado para realizar evaluaciones rápidas en el campo, tales como: analizar distribución, cubrimiento, penetración y tamaño de gota de aplicaciones terrestres y/o aéreas, especialmente a bajo y ultrabajo volumen.

Aunque las aspersiones acuosas no se marcan sobre el colector CF-1, éste es útil para observar el cubrimiento cuando se utilizan trazadores fluorescentes, con base en aceite.

Evaluación biológica

Consiste en determinar el grado de control del insecto, hongo y/o arvense, después de una aplicación, a través del porcentaje de daño y la cantidad y calidad de la cosecha. Esta evaluación es lenta y toma tiempo para obtener la información final, pero es muy confiable y es complementaria de la evaluación física para determinar la eficacia de una aspersión.

Métodos para evaluar el cubrimiento

La determinación del cubrimiento es el método más simple y confiable para obtener información en cuanto a la calidad de una aplicación. Los métodos más utilizados en tecnología de aplicación, para evaluar el cubrimiento son: 1) por comparación, 2) ocular, 3) analizador de imagen, 4) rayos láser Knollenberg. Los métodos del analizador de imagen y el rayo láser, son utilizados en laboratorios de universidades y/o centros de investigaciones de tecnología de aplicación y en fábricas de equipos de aspersión y/o de boquillas, en diferentes países del mundo.

Por comparación

Este método se utiliza, cuando se necesita una indicación inmediata de una aplicación en el campo. Se basa fundamentalmente en la elaboración de una escala comparativa con diferentes cubrimientos. Es cualitativo pero tiene la ventaja de ser rápido, práctico y es útil para corregir los parámetros necesarios para realizar una correcta aplicación. Es apropiado para técnicos y extensionistas agrícolas, los cuales necesitan comprobar y corregir rápidamente los parámetros de una aplicación en el campo, principalmente en aspectos relacionados con boquillas, presiones de trabajo, sistemas y volúmenes de aplicación.

Ocular

Es el método más utilizado para realizar investigaciones sobre tecnología de aplicación y equipos de aspersión, tanto en café como en otros cultivos.

Para la determinación del cubrimiento se utilizan lupas monoculares de diferentes aumentos (15, 20 y 30X). Este método es práctico, confiable y fácil de usar en el campo, ya que no requiere de sitios especiales para realizar las mediciones.

Para evaluar el cubrimiento (No. de gotas / cm²) se requiere inicialmente, determinar el campo óptico de la lupa y/o del observador. Para el efecto, se coloca la lupa sobre un papel milimetrado y se cuenta el número de cuadros (mm) que se observan en el campo, y con este dato, se calcula el área total mediante la fórmula $A = \pi \cdot r^2$. El área de la lupa es el divisor de 100 mm² (1 cm²), con el cual se obtiene el factor de conversión.

Para determinar el cubrimiento se requiere leer con la lupa el número de gotas, grandes y pequeñas, que se observan en 4, 6 ó más campos, dependiendo del tamaño del colector y se estima el promedio. Luego este valor se multiplica por el factor de conversión para obtener el número de gotas/cm², finalmente la información obtenida se registra en tablas elaboradas para tal fin.

Actualmente, para evaluar físicamente las aplicaciones en café para el control de la broca, se están utilizando colectores de papel kromacote de 48 cm² (16 x 3 cm), leyendo 8 campos (4 por encima y 4 por debajo) en relación con la posición de la tarjeta en la rama (Villalba, 2003).

Métodos para determinar el tamaño de la gota

Para determinar el tamaño de gota, (diámetro medio volumétrico, VMD) se han desarrollado muchas técnicas bajo condiciones particulares. Las técnicas modernas incluyen fotografía a alta velocidad, rayos láser y analizador de imagen, entre otros. Los métodos más utilizados en tecnología de aplicación en café y otros cultivos son: por comparación, por el diámetro máximo, la grátícula Porton G-12 y el analizador de imagen. A continuación, se describen algunos de estos métodos:

Comparación

Cuando no se requieren mediciones precisas para evaluar el tamaño de gota, se pueden utilizar escalas comparativas de diferentes tamaños de gota (VMD), previamente determinados y clasificados según el tamaño de las mismas. Este método es útil para tener una impresión rápida en el campo, del tamaño de gota que se está produciendo con un determinado equipo de aspersión y boquilla, a una presión determinada.

Diámetro máximo

Este método consiste en seleccionar las manchas más grandes de cada colector con una lupa de 20X, luego se clasifican en grupos de acuerdo al tamaño (50 µm). Posteriormente, se escoge la mancha de mayor tamaño de esta distribución, la cual debe cumplir los siguientes requisitos: debe haber por lo menos dos gotas de este tamaño y una de un tamaño inmediatamente inferior sobre el colector, y finalmente, se determina el VMD mediante la fórmula:

$$\text{VMD} = \frac{\text{D.MAX}}{\text{F.E} \times 2,2}$$

En donde:

VMD : Diámetro medio volumétrico
 D.MAX : Diámetro máximo
 F.E. : Factor de expansión
 2,2 : Constante

Nota: El factor de expansión de una gota cuando se usa el colorante azul de metileno y el papel Kromacote es 1.

Grátícula Porton G-12

Esta grátícula, se utiliza cuando se requiere realizar mediciones muy precisas, de tamaños de gota en trabajos de investigación sobre tecnología de aplicación y equipos de aspersión y se instala en el ocular del microscopio, el cual debe tener una platina mecánica para poder alinear las gotas que están en el colector en una serie de líneas de la grátícula. A partir de la línea base Z la distancia entre esas líneas se incrementa en una progresión de $\sqrt{2}$. El uso de la grátícula es dispendioso cuando se requiere realizar mediciones de grandes cantidades de muestras.

Para determinar el tamaño de gota con la Grátícula Porton GT-12, se utiliza un microscopio con el ocular 10X y el objetivo 8X, para obtener un aumento de 80X. En el ocular del microscopio se instala la grátícula, para medir el tamaño de la gota, la cual tiene 14 divisiones de la línea Z hasta 14.

Para medir el tamaño de las gotas se hace coincidir la línea demarcada con la letra Z y se observa hasta cuál línea se extiende. En el caso que la gota se localice entre dos líneas, se aproxima a la siguiente. En la Tabla 12.2, se muestra el tamaño de la gota de acuerdo a la clase a la que se extienda su diámetro.

■ ■ **Tabla 12.2.** Clasificación por clase del tamaño de gota, según la Grátícula Porton GT-12

Clase	Tamaño de gota (micras)
1	5,50
2	7,70
3	11,04
4	15,50
5	22,00
6	31,25
7	44,17
8	62,50
9	88,35
10	125,00
11	176,77
12	250,00
13	353,55
14	500,00

Métodos para determinar la distribución

Los métodos que se utilizan para determinar la distribución son los mismos que usan para cuantificar el cubrimiento.

Método para determinar depósitos

Para la determinación de los depósitos se utiliza el trazador fluorescente Uvitex, en dosis de 3 a 4 gramos por hectárea, y un fluorómetro.

Para la realización de las lecturas en el fluorómetro hay que calibrarlo inicialmente, para lo cual se utiliza uno de los siguientes solventes: Isopropanol, cloroformo y/o tetracloruro de carbono. Para el efecto, al prender el aparato el dial debe estar marcando "0" y cuando se utilice una mezcla de un litro de uno de los solventes más 100 μm de Uvitex, el dial del fluorómetro debe estar marcando "100" (Ciba Geigy, 1985).

El procedimiento para realizar la lectura de las muestras, es el siguiente:

1. Los colectores y/o frutos de café, que recibieron la aplicación, deben lavarse con el mismo solvente que se utilizó para la calibración del fluorómetro.
2. La cantidad de solvente requerido para lavar los colectores y/o frutos de café, depende de la cantidad de trazador depositada por colector, para lo cual la mínima cantidad a utilizar son 10 mL.
3. La recuperación se calcula por la intensidad de fluorescencia de la solución utilizada para el lavado de los colectores, el área del colector y el contenido de Uvitex OB en la mezcla que se aplicó.
4. La recuperación se calcula mediante la fórmula:

$$\text{Recuperación estimada (\%)} = \frac{\text{Total estimado depósito/árbol} - \text{Depósito real/ha}}{\text{No de árboles/ha}}$$

EQUIPOS DE ASPERSIÓN

Actualmente, en el mercado nacional existe una serie de equipos de aspersión tanto de la industria nacional como importados, para realizar aplicaciones para el control de problemas fitosanitarios en el cultivo café, como en otros (frutales) de la zona cafetera colombiana. Por lo tanto, la selección de un equipo de aspersión depende entre otros factores de: la extensión de la finca, la topografía, la disponibilidad de agua, la duración de la labor, las características de los lotes, la frecuencia de aplicación y el costo del equipo (Villalba, 2003).

Un equipo de aspersión es una máquina diseñada para realizar aplicaciones de plaguicidas tanto líquidos como polvos, para el control de problemas fitosanitarios en los cultivos y/o aspersiones para el control de plagas domésticas, tales como: moscas, cucarachas, pulgas, chinches, etc.

Todo equipo de aspersión está constituido por tres partes principales, independientemente que se trate de una aspersora para realizar aplicaciones en cultivos, aplicaciones domésticas y/o aplicaciones aéreas, que son: un tanque para el agroquímico, un sistema de presión y un sistema de salida (Villalba, 2003).

Existen diferentes tipos de equipos, los cuales dependiendo de su funcionamiento, se pueden clasificar como:

- De palanca o presión hidráulica
- De presión neumática
- De presión previa retenida
- Motorizados de espalda con ventilador
- Motorizados de espalda con bomba de presión
- Semiestacionarios motorizados
- De disco rotativo y/o aplicación controlada de gotas (CDA)
- Termonebulizadores

Equipos de palanca o presión hidráulica

Se conocen como de palanca y/o presión hidráulica (Figura 12.1), ya que es el mismo líquido que bajo presión lo hace salir por la boquilla y lo transforma en una nube de aspersión. Son muy utilizados en cultivos como: café, tomate, hortalizas y pastos.

Estas aspersoras son de fácil operación, pero tienen los siguientes inconvenientes:

El operario lleva ambas manos ocupadas y en terrenos pendientes hay variabilidad en la calidad de las aplicaciones y, por ende, en la eficacia biológica de los productos aplicados.



Figura 12.1. Equipos de palanca y/o presión hidráulica (Foto G. Hoyos).

Por su funcionamiento, la presión es variable, dependiendo de la descarga de la boquilla, con la generación de diferentes tamaños de gotas y por ende, diferentes cubrimientos, lo cual influye en la eficacia biológica de los productos.

Con base en lo anterior, a estos equipos de palanca se les debe colocar un regulador de presión y/o una válvula reguladora, con el fin de realizar las aplicaciones a las presiones recomendadas, para un insecticida, fungicida y/o herbicida.

Los equipos de palanca más utilizados para hacer aplicaciones en cafetales son: Matabi Súper Agro – 20, Royal Cóndor, Tarea estándar, Herragro y Jacto pjh 9000.

Equipos de presión previa retenida (PPR)

Se conocen como de presión previa retenida (Figura 12.2), porque como su nombre lo indica, antes de introducirles el líquido hay que inyectarles 40 psi de presión inicial, y posteriormente, con la ayuda de la bomba, se les introduce 10 litros de la mezcla a asperjar.

Presentan muy buenas características de fabricación y funcionamiento y, son uno de los equipos con los cuales se puede realizar una aplicación técnicamente bien hecha de cualquier producto biológico o químico, ya que poseen un regulador de presión de buena calidad y una boquilla de baja descarga (TX3 ó HC3). Pero tienen como desventaja su bajo rendimiento de aplicación, por lo que un solo operario puede hacer la aplicación en una hectárea de 5.000 a 6.000 árboles, en una semana (cinco jornales).



■ ■ **Figura 12.2.** Equipos de presión previa retenida (Foto G. Hoyos).

Los equipos de presión previa retenida más conocidos son: Triunfo 40 -100 – 10 y Calimax Leo Cafetera.

Equipos motorizados de espalda con ventilador

Estos equipos (Figura 12.3) se componen básicamente de: un motor de dos tiempos de 70 cc de cilindrada y acoplado a uno de los ejes del cigüeñal un ventilador, el cual genera una corriente de aire que impulsa a través del tubo de salida del aire, con el fin de romper el líquido que fluye por la boquilla e impulsarlo hacia los árboles que se quieren aplicar.

Los equipos más recomendados para realizar aplicaciones en cultivos como banano, plátano, aguacate, macadamia, cítricos, etc., son los siguientes: Solo Port 423, Cifarelli L3 PSA y Efco AT 2080, entre otros.



■ ■ **Figura 12.3.** Equipo motorizado de espalda con ventilador (Foto G. Hoyos).

Motorizados de espalda con bomba de presión

Como los anteriores, estos equipos (Figura 12.4) poseen también un motor de dos tiempos de 22 cc de cilindrada, acoplados a uno de los ejes del cigüeñal, y una bomba de presión de dos pistones, la cual puede generar hasta 246 psi (17 kg/cm²). Estos equipos son recomendados para realizar aplicaciones en cafetales y en algunos casos a frutales. Los más utilizados son: Maruyama MS-056, Maruyama MS-068, Maruyama MS-073 D, Robin Kobra RS-937 y Arimitsu SD-253 D.

Equipos semiestacionario motorizados

Estos equipos (Figura 12.5) están compuestos básicamente por un motor de cuatro tiempos y una bomba de presión de tres pistones, acoplada al motor por una y/o dos poleas con sus respectivas correas. Los pistones pueden ser en acero inoxidable y/o cerámica, dependiendo del fabricante de la bomba, con una grasea y/o aceitera por pistón. En el múltiple de salida hay un regulador de presión con un manómetro (escala de presión en bar y/o kg/cm²), con un máximo de 40 kg/cm², y dos de salida para mangueras de aspersión de un ¼ de pulgada de diámetro interno. Algunos equipos traen una salida adicional de 3/8 y/o ½ pulgadas de diámetro, con el fin de utilizarla para labores de riego.

Además, vienen con una manguera de succión y una de retorno de 2,5 m de longitud, y una de aspersión, la cual debe tener como mínimo 200 m de longitud, una llave de paso de bola y una la lanza de doble salida, distanciadas una de otra 25 cm, aproximadamente, con discos D-35 (700 cc/min a 15 kg/cm²).

Estos equipos se pueden utilizar para realizar aplicaciones en café y cultivos sembrados en hileras como maracuyá. Los más utilizados son: Maruyama MS-253, Maruyama MS 330 ECB, Arimitsu CS-26 KB, Yuan Liang YL-22 y 28, y Diamond YS-22 y 28.

Equipos de bajo volumen

Los equipos de aspersión de bajo volumen no se están utilizando actualmente en el cultivo del café. Algunos de estos equipos son: Micron Ulva, Ulva Fan y Motax.



■ ■ **Figura 12.4.** Equipos motorizados de espalda con bomba a presión (Foto G. Hoyos).



■ ■ **Figura 12.5.** Equipos semiestacionarios (Foto G. Hoyos).

Equipos termonebulizadores

En relación con estos equipos, son muy opcionados para realizar aplicaciones en recintos cerrados como bodegas, teatros y otros sitios, pero no se recomiendan para realizar aplicaciones en cafetales.

Las especificaciones técnicas de los diferentes equipos de aspersión se pueden consultar en el Anexo 1.

Boquillas utilizadas para realizar aplicaciones en cafetales

Las boquillas son consideradas como una de las partes más importantes de cualquier equipo de aspersión. Algunos investigadores en tecnología de aplicación, las consideran como instrumentos de precisión, ya que con ellas se pueden aplicar diferentes volúmenes de aplicación dependiendo de las necesidades en cada caso (Villalba, 2003).

Las principales funciones de las boquillas son:

1. Desintegrar el líquido en gotas
2. Regular el flujo
3. Distribuir el líquido en patrones definidos

Cuando se va a realizar la aplicación de un producto biológico y/o químico, es conveniente seleccionar la boquilla más adecuada, de acuerdo con las siguientes características: descarga, presión de operación, ángulo de salida, patrón de aspersión y tamaño del orificio del disco, ya que el conocimiento de estos factores garantiza el éxito biológico de la aplicación del producto.

El flujo de la boquilla, el cual depende del tamaño del orificio del disco y de la presión de operación, es un aspecto muy importante para determinar el cubrimiento, el volumen de aplicación y la velocidad de aplicación.

La presión, es otro factor fundamental ya que determina el volumen por unidad de tiempo, el ángulo de aspersión, el cubrimiento y el tamaño de gota. En términos generales, se puede indicar que cuando se incrementa la presión se obtiene: menor tamaño de la gota y mayores flujo, ángulo de aspersión, cubrimiento, penetración, distribución, deriva y desgaste del orificio del disco. Cuando se utiliza menor presión se obtiene: mayor tamaño de gota y menores flujo, ángulo de aspersión, cubrimiento, penetración y desgaste.

En el mercado existen boquillas de diferentes materiales las cuales, de menor a mayor resistencia, son: latón, plástico, acero inoxidable, acero inoxidable endurecido, acetal y cerámica.

Las partes de una boquilla típica son: cuerpo, filtro, punta (rotor y disco) y tapa.

Las boquillas recomendadas para los equipos manuales de espalda, motorizados de espalda con bomba de presión y semiestacionarios, para el control de la broca y la roya del cafeto, se presentan en las Tablas 12.3 y 12.4.

Tabla 12.3. Boquillas recomendadas para los equipos manuales de espalda.

Referencia	Descarga* (cc/min.)
TX3 - HC3	190
TX4 - HC4	252
TX5 - HC5	315
TX6 - HC6	380
TXVS 3 / TXVK 3 (Amarilla)	190
TXVS 4 / TXVK4 (Verde)	252
TXVS 6 / TXVK 6 (Roja)	380
Albuz ATR 80	200
RC - 350 B 101X	350
G -32	320
FM-001-37	340
TXA 800050 VK	190

* Presión 40 PSI

Tabla 12.4. Discos de las boquillas para los equipos motorizados de espalda con bomba de presión y semiestacionario.

Referencia	Presión (kg/cm ²)	
	15	20
	Descarga (cc/min.) *	
D-35	1.500	1.700
D-6	1.960	2.250
C-35	3.000	3.440

* Descarga de 2 discos

CALIBRACIÓN DE UNA APLICACIÓN

La calibración se puede definir como el proceso por medio del cual se determinan los factores básicos para el éxito biológico de una aplicación.

La calibración es importante porque de lo contrario se puede incurrir en dos situaciones: en una sobredosificación o en una subdosificación. Ambas son malas: la primera porque se aplicaría mayor cantidad del plaguicida y aunque se controle la plaga, se incrementan los costos de las aplicaciones y se generaran una serie de problemas potenciales como son: presión a la plaga para que adquiriera resistencia, resurgencia de plagas potenciales y mayores riesgos de contaminación ambiental y de los operarios.

En relación con la subdosificación, ésta tendría mayores implicaciones negativas que la sobredosificación, por lo que habría necesidad de repetir la aplicación del plaguicida, perdiéndose el producto aplicado y los jornales, y en el caso específico de la broca del café, se repetiría pero ya no en el momento oportuno, con una baja eficacia de la aplicación. Adicionalmente, también se incurrirían en problemas como los mencionados en el caso de una sobredosificación.

Para realizar una correcta calibración es necesario tener en cuenta los siguientes factores:

- Condiciones del cultivo
- Equipo de aspersión

- Selección del producto a aplicar
- Operario

En cuanto a las condiciones del cultivo es conveniente conocer la densidad y distancia de siembra, la altura de las plantas, la topografía y el sistema de producción de café (a libre exposición solar o bajo sombra).

En relación con el equipo de aspersión es importante conocer: el tipo de equipo de aspersión (palanca, presión previa retenida, motorizado de espalda con bomba de presión y/o semiestacionario); la presión de aplicación: para herbicidas se recomienda entre 15 y 25 psi y para insecticidas y fungicidas a 40 psi; el tipo de boquilla: de abanico y/o cortina para aplicar herbicidas, o de cono hueco para la aplicación de insecticidas y/o fungicidas; el flujo de las boquillas: entre 190 y 315 cc/min. a 40 psi (TX 3, TXVS 3/4/5 y TXVK 3/4/5), para la aplicación de insecticidas y fungicidas, y entre 190 y 378,5 cc/min. a 40 psi (800050 – 8001), para la aplicación de herbicidas.

Sistemas de aplicación

Existen diferentes sistemas de aplicación dependiendo del equipo de aspersión a utilizar, entre los cuales están:

1. Para los equipos de aspersión de palanca y presión previa retenida se recomienda el sistema de aplicación árbol por árbol (dos medias caras por pasada en zigzag).

El sistema de aplicación cuando se utiliza el equipo motorizado de espalda con bomba de presión, es el de dos surcos por encima de la copa de los árboles y/o dos medias caras por pasada, dependiendo de la topografía y/o altura de los árboles.

Con el equipo semiestacionario se sugiere utilizar el sistema de dos medias caras de ida y dos de regreso, u otro sistema que se adapte a las condiciones topográficas del lote.

La velocidad de aplicación depende de la topografía del lote a aplicar, pero en general, se recomienda una velocidad de más o menos un metro por segundo.

2. Volumen de aplicación: se recomienda un volumen de 25 y 50 cc, para árboles de dos y cuatro años, respectivamente.

Selección del producto a aplicar

Para el control de la broca del café se recomienda utilizar productos biológicos y/o químicos. Para el efecto, el hongo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin es el más utilizado en una dosis de 1×10^9 esporas/árbol.

En cuanto a los insecticidas, se pueden utilizar:

- **fentoato** (Fentopen 500 EC)
- **fenitrothion** (Sumithion 50 EC),
- **clorpirifos** (Lorsban 4 EC, Pirinex 48 EC, Ráfaga, etc.). Con este ingrediente activo, existen alrededor de diez productos de diferentes casas comerciales de agroquímicos.

La concentración recomendada para aplicar estos insecticidas es de 6 cc de producto comercial por litro de agua.

Operario

En cuanto a los operarios que van a realizar la calibración, es conveniente que se les dé un entrenamiento de los diferentes tipos de equipos de aspersión, boquillas, presión, volumen de aplicación, etc., además, se les debe explicar directamente en el lote que se va aplicar cómo se debe hacer la aspersión. Por ejemplo, explicarles que la lanza se debe colocar unos 20 cm de distancia de los árboles y la aplicación se debe hacer de arriba hacia abajo.

Antes de realizar la calibración, se debe revisar el equipo de aspersión y comprobar que todos elementos, como son manómetros del tanque y regulador de presión, llave de paso y boquilla, están funcionando adecuadamente y no presentan fugas.

Hay varios métodos para realizar la calibración de un equipo de aspersión, pero cualquiera que se utilice, debe producir los mismos resultados, independiente que el equipo sea manual de espalda, motorizado de espalda o semiestacionario.

Antes de iniciar la calibración, se debe determinar el flujo de la boquilla a la presión de aplicación, haciendo mínimo tres lecturas y promediarlas. Luego, se le adiciona una cantidad conocida de agua a la aspersora, normalmente 5 litros, se ajusta la presión de salida, dependiendo del producto que se va aplicar, con el manómetro del regulador de presión y se inicia la aspersión de los árboles. Posteriormente se cuentan los árboles que se asperjaron con los 5 litros de agua, y se determina el volumen de aplicación por árbol, dividiendo la cantidad de agua entre el número de árboles asperjados.

Para calcular el volumen de aplicación por hectárea, se debe multiplicar el número de árboles de la hectárea por los 5 litros de agua, que se utilizaron para hacer la aplicación, y se divide por el número de árboles asperjados, así:

Volumen por hectárea (litros): $V = N \cdot X / A$

En donde:

N = Número de árboles por hectárea

X = Volumen de agua utilizado para la calibración (5 litros)

A = Número de árboles asperjados

En este caso, la población es de 5.000 árboles/ha de cuatro años, los cuales se cubren adecuadamente con 50 cc/árbol, y para la calibración, se utilizaron 5 litros de agua con los cuales se asperjaron **125 árboles**, entonces el volumen, será:

$$\text{Volumen por hectárea: } V = \frac{5.000 \times 5}{125} = 200 \text{ litros}$$

Ahora, con base en este ejemplo, para determinar el volumen de aplicación por árbol se divide el volumen por hectárea entre la población de árboles, entonces:

$$\text{Volumen } V = \frac{200 \text{ litros}}{5.000 \text{ árboles}} = 0,04 \text{ L/árbol} = 40 \text{ cc/árbol}$$

Con base en estos resultados, el volumen por árbol es menor al de referencia, que es de 50 cc, razón por la cual, se debe hacer nuevamente la calibración para tratar de depositarle la cantidad adecuada, de lo contrario se podría presentar deficiencia en la eficacia del producto aplicado.

Manejo y mantenimiento de los equipos de aspersión

Equipos de presión hidráulica o palanca y presión previa retenida (PPR)

- Antes de utilizar la aspersora, se debe leer detenidamente el manual, para armarla y desarmarla correctamente.
- El O-Ring del equipo de palanca o las chupas de cuero de las de PPR, se deben lubricar, antes de cada jornada de trabajo.
- Antes de utilizar los equipos se deben revisar todas las partes y verificar que no presenten fugas.
- Si las aspersoras poseen válvulas reguladoras y/o reguladores de presión, se le debe tomar el flujo a la boquilla que se va a utilizar, a la presión seleccionada.
- Se deben utilizar boquillas de baja descarga, tales como: TX3, TXVS3, TXVK3 y otras de similares características.
- Siempre que finalice la jornada de trabajo se debe lavar la aspersora unas tres veces haciéndole recircular agua. No se debe dejar líquido en la aspersora, de un día para otro, y mucho menos con productos químicos.
- En cuanto sea posible, se debe tener un equipo de aspersión para la aplicación de fungicidas e insecticidas y otro para herbicidas.
- Se deben revisar y limpiar los filtros de la llave de paso y boquillas de los equipos, con un cepillo de cerdas plásticas.
- Los equipos de aspersión se deben almacenar en un lugar fresco, seco y sin líquido, como se mencionó anteriormente.

Motorizados de espalda con ventilador y bomba de presión

- Leer siempre el manual de manejo y mantenimiento antes de usar el equipo.
- Se debe preparar la mezcla de gasolina y aceite de dos tiempos en la relación que indique el fabricante, por ejemplo 25:1, y en lo posible preparar la cantidad de mezcla que se va utilizar durante la jornada de trabajo.
- Cuando se va a reabastecer el tanque de combustible de los equipos, nunca se les debe quitar el filtro del tanque y, como norma de seguridad, el motor siempre debe estar apagado.
- Cuando se termina la labor de aspersión se debe cerrar la llave de paso de combustible, manteniendo el motor encendido y con agua en el tanque de agroquímicos, con el fin de consumir la mezcla de las mangueras y el carburador.
- Como estos equipos tienen acoplada una bomba centrífuga y/o de presión, no se deben operar sin líquido en el tanque de agroquímicos, porque se puede quemar y además, son muy costosas.
- Las bombas de presión se deben revisar periódicamente, dependiendo del uso del equipo, y lubricarlas con unas gotas de aceite de cuatro tiempos, en el caso de los equipos con bomba de presión.
- Cuando se termine la jornada de trabajo, se debe hacer recircular agua, con el motor encendido, para lavar completamente el equipo.

Equipos semiestacionarios

- Leer siempre, antes de usar el equipo, el manual de manejo y mantenimiento.
- Antes de prender por primera vez el motor, tanto al motor como a la bomba de presión, se les debe adicionar el tipo de aceite sugerido y la cantidad recomendada por el fabricante, los cuales aparecen en el manual de funcionamiento.
- Se debe revisar periódicamente el nivel de aceite del motor y la bomba, y si le hace falta, adicionarlo hasta el nivel indicado.
- El cambio de aceite del motor y la bomba, se debe realizar teniendo en cuenta las recomendaciones del fabricante, para lo cual hay que leer y revisar el manual de manejo y mantenimiento del equipo.
- Diariamente, antes de cada jornada de trabajo y durante la labor de aspersión, se debe lubricar la bomba de presión, colocándole de tres a cuatro gotas de aceite, y/o darle de tres a cuatro vueltas a las graseras.
- Por razones de seguridad, se recomienda apagar siempre el motor cada vez que se va a reabastecer de combustible.
- Cada día que se va a iniciar la labor de aspersión, se debe calentar el motor por unos 5 minutos, teniendo la precaución de introducir a la caneca las mangueras de succión y retorno, para que recircule el líquido.
- No se deben sacar las mangueras de succión y retorno cuando se vacíe la caneca de donde se está succionando la mezcla, porque la bomba de presión succiona aire y trabaja en seco, y se corre el riesgo que se quemen los empaques del pistón.
- El motor no se debe operar a máxima aceleración, ya que a media y/o tres cuartos, son suficientes para realizar la labor de aspersión, aún cuando se requiera aplicar en los lotes que están en la parte alta de la finca.
- Revisar la bujía y descarbonarla si es necesario, con un cepillo de cerdas metálicas, y recalibrarla, con un calibrador.
- Cuando se esté lavando el equipo, es recomendable cerrar la llave de paso de gasolina hasta que se consuma la gasolina de las mangueras y el carburador.
- Después de 50 horas de trabajo, se debe revisar la tensión de las correas del equipo, y si es necesario tensionarlas.
- El equipo siempre debe estar nivelado, ya que el sistema de lubricación, tanto del motor como el de la bomba de presión, es por salpique.
- Se recomienda, para estos equipos, una longitud mínima de las mangueras de aspersión de 200 metros.
- Se debe ajustar la presión, dependiendo si se aplica hacia arriba o hacia abajo, ya que por cada 10 metros que se ascienda o descienda, se incrementa y/o disminuye la presión en 1 kg/cm² (14,5 psi).
- La manguera de succión nunca se debe utilizar sin filtro, porque pueden pasar a la bomba residuos sólidos que podrían desgastar los pistones de la bomba.

- El equipo se debe ubicar estratégicamente en los lotes, para evitar moverlo frecuentemente y disminuir así los rendimientos de aplicación.
- Después de finalizada la jornada de trabajo siempre se debe recircular agua limpia por todo el equipo, incluyendo las mangueras y las boquillas.
- El filtro de aire se debe revisar cada 50 horas de trabajo, y si está muy sucio lavarlo con agua y detergente, secarlo y volverlo a colocar.
- Después de cada jornada de trabajo, el equipo se debe limpiar con un trapo húmedo.

Literatura citada

- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D. A.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA, F. J. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Federación Nacional de Cafeteros, Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía", Cenicafé. Feriva S. A. ISBN 958-96554-0-8. 2a edición. 134 p.
- CIBA - GEIGY, 1985. International training course in ground and aerial application for plant protection and biotechnical products. Volume 1 – 2. Les Barges (Vouvry). Switzerland. Julio 5 – 16, 1.985, p. 123 y 136.
- MATTHEWS, G. A. 1979. Pesticide application methods. London, Longman, 336 p.
- VILLALBA, D. A. 1982. Técnicas de aplicación de plaguicidas en el cultivo del cafeto. *In*: Taller sobre la roya del café (*H. vastatrix*. Berk y Br.). Cenicafé, Manizales, Colombia), abril 12-17 de 1982, 20 p.
- VILLALBA, D. A. 1986. Evaluación del equipo de aspersión semiestacionario motorizado ARIMITSU CS – 26 KB, para el control de la roya del cafeto. *In*: Informe interno Disciplina de Fitopatología. Cenicafé, Chinchiná, Colombia, 12 p.
- VILLALBA, D. A. 1992. Desarrollo de tecnología de aplicación para el control de la broca del café. *In*: Informe sobre avances en investigaciones en broca. Cenicafé. Chinchiná (Colombia), marzo 20, 1992. p. 1-29.
- VILLALBA, D. A. 1993. Calibración de aspersoras manuales de espalda. Cenicafé, Boletín de Extensión No. 75, Chinchiná (Colombia), 16 p.
- VILLALBA, D. A. 2003. Curso sobre Tecnología de aplicación de agroquímicos y equipos de aspersión para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Federación Nacional de Cafeteros de Colombia – Centro Nacional de Investigaciones de Café - Cenicafé, Chinchiná (Colombia), 45 p.

Anexo I.

Especificaciones de los equipos más utilizados en la zona cafetera colombiana.

Equipos de aspersión de palanca o presión hidráulica

Marca: Matabi

Modelo: Super Agro 20

Peso: 3,8 kg

Capacidad del tanque de agroquímicos: 20 litros

Material de construcción: Polipropileno

Correas de sujeción: De nailon y graduables

Chasis – base: Polipropileno

Tipo de bomba: De émbolo

Cámara de presión: Polipropileno

Cilindro de la bomba: Polipropileno

Válvulas (2): En acero inoxidable, con diámetro en mm.

Palanca: Tubo de hierro

Manguera de salida: Plástica, de 6 mm de Ø interno

Llave de paso: Polipropileno y automática

Lanza: Latón cromado

Boquilla (cono de graduable): Latón cromado

Descarga: 800 cc/min. a 40 psi.

País de origen: España

Fabricante: GOIZPER S. COOP.

Marca: Royal Cóndor

Modelo: Clásica

Peso: 5,4 kg

Capacidad del tanque de agroquímicos: 20 litros

Material de construcción: Polietileno de alta densidad

Correas de sujeción: De nailon y graduables

Chasis / base: Hierro

Tipo de bomba: De émbolo

Cámara de presión: De polietileno

Cilindro de la bomba: Latón

Válvulas (2): En latón, de 7/16 mm de Ø interno

Palanca: Hierro

Manguera de salida: Caucho y 3/8" de Ø interno

Llave de paso: Poliacetal y automática

Lanza: Latón

Boquilla (De cono hueco): Latón (Graduable)

Descarga: 600 cc/min, a 40 psi.

País de origen: Colombia

Fabricante: PROGEN S.A.

Marca: Tarea

Modelo: Estándar

Peso: 5,5 kg

Capacidad del tanque de agroquímicos: 20 litros

Material de construcción: Polietileno de alta densidad
Correas de sujeción: De nailon y graduables
Chasis / base: Hierro
Tipo de bomba: De émbolo
Cámara de presión: De polietileno
Cilindro de la bomba: Latón
Válvulas (2): En latón, de 7/16 mm de Ø interno
Palanca: Hierro
Manguera de salida: Caucho y 3/8' de Ø interno
Llave de paso: De polietileno
Lanza: Latón
Boquilla (De cono hueco): Latón
Descarga: 600 cc/min. a 40 psi
País de origen: Colombia
Fabricante: Taller Rentería

Marca: Herragro

Modelo: 289
Capacidad del tanque de agroquímicos: 20 litros
Material de construcción: Polipropileno de alta densidad
Correas de sujeción: Nailon, graduables
Chasis / base: Polietileno
Tipo de bomba: De émbolo
Cámara de presión: Polipropileno y posición interna
Cilindro de la bomba: Polipropileno
Válvulas (2): Polipropileno de 13 mm de diámetro
Palanca: Tubo de hierro
Manguera de salida: Vinilo, con refuerzo de fibra de nailon, de 8 mm de Ø interno
Llave de paso: Plástica y automática
Lanza: Latón
Boquilla: Plástica y cono graduable
Descarga: 740 cc/min. a 40 psi
País de origen: México
Importado y comercializado por: Herramientas Agrícolas S.A.

Equipos de aspersión de presión previa retenida

Marca: Triunfo

Modelo: 40 – 100 - 10
Peso (vacía): 7,5 kg
Capacidad del tanque de agroquímicos: 10 litros
Material de construcción: Acero inoxidable
Resistencia: 200 psi
Base: Acero inoxidable
Correas de sujeción: En nailon y graduables
Espaldar: En acero inoxidable y reata de nailon
Manómetro del tanque: Tipo bourdon, escala de 0 a 150 psi
Regulador de presión: En latón. Manómetro de 0 - 100 psi
Manguera de salida: Caucho, de 1/4' de Ø interno
Llave de paso: Latón y automática
Lanza: En latón, de 80 cm. de longitud
Boquilla (De cono hueco): TX3 Punta en acero inoxidable
Descarga: 200 cc/min. a 40 psi
Bomba inyectora: De émbolo

Material de construcción: Latón y manija de madera

Base: Lámina de hierro

Desplazamiento: 200 cc

Campana de succión: En acero inoxidable, filtro de 50 mallas en acero inoxidable

País de origen: Colombia

Fabricante: Fumigadoras Triunfo S.A.

Marca: Calimax

Modelo: Leo Cafetera

Peso (vacía): 8,0 kg

Capacidad del tanque de agroquímicos: 10 litros

Material de construcción: Acero inoxidable

Resistencia: 200 psi

Base: Lámina de hierro

Correas de sujeción: En nailon y graduables

Espaldar: Lámina de hierro y reata de nailon

Manómetro del tanque: Tipo bourdon, escala de 0 a 160 psi

Regulador de presión: En latón y manómetro de 0 - 100 psi

Manguera de salida: Caucho, de 1 m de longitud y 3/8" de Ø interno

Llave de paso: Latón y automática

Lanza: En latón, de 80 cm. de longitud

Boquilla (De cono hueco): HC3 Punta en latón y disco en acero inoxidable.

Descarga: 200 cc/min. 40 psi

Bomba inyectora: De émbolo

Material de construcción: Latón y manija de madera

Base: Lámina de hierro

Desplazamiento: 200 cc

Mangueras (de caucho): De succión de 2 m e inyección de 0,6 m de longitud y 3/8" de diámetro

Campana de succión: En acero inoxidable y filtro de 50 mallas en cobre

País de origen: Colombia

Fabricante: Colinagro S.A.

Equipos de aspersión motorizados de espalda con ventilador

Marca: Maruyama

Modelo: MD-150 DX

Peso: 12 kg

Capacidad del tanque de agroquímicos: 23 litros

Material de construcción: Polietileno

Correas de sujeción: Plástica, graduables y con hombreras

Motor: Monocilíndrico de 2 tiempos

Cilindrada: 42 cc

Potencia: 3,5 HP

Revoluciones: 8.500 rpm

Sistema de encendido: Electrónico

Carburador: Tipo Bing (Flotador)

Mezcla de combustible: 25:1

Capacidad del del tanque de combustible: 1,2 litros

Consumo de combustible: 0,5 L/h

Bujía: NGK BM 6 A

Sistema de arranque: Reversible

Velocidad de aire: 120 m/s

Volumen de aire: 20 m³/min.

Alcance: horizontal 8 m y vertical 6 m

Tipo de boquilla: Graduable (4 posiciones)
Flujo: De 1 – 4 L/min.
Descarga de polvos: 0,5 – 5 kg
País de origen: Japón

Marca: Solo

Modelo: Port 423
Peso: 11,5 kg
Capacidad del tanque de agroquímicos: 12 litros
Material de construcción: Polietileno
Correas de sujeción: Nailon, graduables y hombreras
Motor: Monocilíndrico de 2 tiempos
Cilindrada: 70 cc
Potencia (HP): 3,5
Revoluciones: 6.000 rpm
Sistema de encendido: Electrónico
Carburador: Tipo Bing (Flotador)
Capacidad del tanque combustible: 1,4 litros
Mezcla de combustible: 25:1
Consumo de combustible: 1,75 L/h
Bujía: NGK 7 H S
Sistema de arranque: Reversible
Velocidad de aire: 100 m/s
Volumen de aire: 20 m³/min.
Boquillas (2): Roja y negra (Graduables 4 posiciones)
Flujo de las boquillas: Roja: entre 560 – 2.400 cc/min. y Negra: entre 1.140 – 5.800 cc/min.
Descarga de polvos: De 0,5 - 4 kg/min.
Alcance (metros): Horizontal 12 m; vertical 8 m
Bomba de presión: Opcional
País de origen: Alemania
Fabricante: SOLO KLEINMOTOREN GmbH

Equipos de aspersión motorizados de espalda con bomba de presión

Marca: Maruyama

Modelo: MS 073 D
Peso: 8,5 kg
Capacidad del tanque de agroquímicos: 25 litros
Material de construcción: Polietileno
Correas de sujeción: Nailon, con hombreras y graduables
Motor
Marca: Maruyama
Clase: Monocilíndrico de 2 tiempos
Cilindrada: 23 cc
Potencia (HP): 1,5
Revoluciones: 6.000 rpm
Sistema de encendido: Electrónico
Carburador: De diafragma
Sistema de arranque: Reversible
Bujía: NGK BM 6A
Separación de los electrodos: 0,6 mm
Capacidad del tanque de combustible: 1 litro
Mezcla de combustible: 25:1
Consumo de combustible: 1 L/h

Bomba de presión

Tipo: De doble pistón (Dúplex)

Cilindro: Aluminio

Material de construcción carcasa: Polipropileno

Regulador de presión: Polipropileno

Número de posiciones: 4 (Encendido, malezas, insecticidas y alta presión)

Presión máxima: 525 PSI

Descarga: 7,1 L/min.

Manguera de salida: Polietileno, de 1 m de longitud y 1/4" de Ø interno

Llave de paso: Latón y de esfera

Lanza: En latón cromado y 80 cm. de longitud

Boquilla: Dos de disco, ensamblados en un portaboquilla de polipropileno

Flujo de los discos: 1.400 cc/min. a 15 kg/cm²

País de origen: Japón

Fabricante: MARUYAMA MFG. CO., LTD.

Marca: Robin Kobra

Modelo: RS- 937

Peso: 8, kg

Capacidad del tanque de agroquímicos: 25 litros

Material de construcción: Polietileno

Correas de sujeción: Nailon, con hombreras y graduables

Motor

Marca: Robin

Clase: Monocilíndrico de 2 tiempos

Cilindrada: 25 cc

Potencia (HP): 1,8

Revoluciones: 7.000 rpm

Sistema de encendido: Electrónico

Carburador: De diafragma

Sistema de arranque: Reversible

Bujía: NGK BM 6A

Separación de los electrodos: 0,6 mm

Capacidad del tanque de combustible: 1 litro

Mezcla de combustible: 25:1

Consumo de combustible: 1,2 L/h

Bomba de presión

Tipo: Pistón

Material de construcción carcasa: Polipropileno

Regulador de presión: Polipropileno

Número de posiciones: 4 (Encendido, malezas, insecticidas y alta presión)

Presión máxima: 375 PSI

Descarga: 6,8 L/min.

Manguera de salida: Polietileno, de 1 m de longitud y 1/4" de Ø interno

Llave de paso: Latón y de esfera

Lanza: En latón cromado y 80 cm. de longitud

Boquilla: Dos de disco, ensamblados en un portaboquilla de polipropileno.

Flujo de los discos: 1.400 cc/min. a 15 kg/cm²

País de origen: Japón

Fabricante: MARUYAMA MFG. CO., LTD.

Equipos semiestacionario motorizados

Marca: Maruyama

Modelo: MS- 253

Peso: 35 kg

Motor

Marca: Robin

Modelo: EY – 15 D

Clase: Monocilíndrico de 4 tiempos

Cilindrada: 143 cm³

Potencia (HP): 3,5

Revoluciones: 4.000 rpm

Sistema de encendido: Electrónico

Carburador: De flotador

Sistema de arranque: Reversible

Bujía: NGK B6HS/ Champion L86C

Separación de los electrodos: 0,6-0,7 mm.

Capacidad del tanque de combustible: 2,8 litros

Consumo de combustible: 1 L/h (aceleración media)

Filtro de aire: Cuerpo metálico, espuma de uretano tapa metálica perforada

Sistema de aceleración: Palanca metálica, con el extremo en plástico

Sistema de lubricación: Por salpique

Capacidad del cárter: 0,6 litros

Tipo de aceite: SAE 30 ó 40

Sistema de enfriamiento: Por aire

Sistema de parada: Por medio del interruptor o cerrando la llave de paso de gasolina

Bomba de presión

Marca: Maruyama

Modelo: MS 253 ECB / MS 330 ECB

Material de construcción carcasa: Aluminio endurecido

Capacidad del depósito de aceite: 0,5 litros

Tipo de aceite: SAE 30 ó 40

Cigüeñal: En acero inoxidable

Número de levas: Tres (3)

Rodamientos: Dos de bolas

Poleas: Dos, una en el motor y otra en la bomba

Tipo: De doble banda

Correas: Dos en "V"

Pistones: Tres pistones en acero inoxidable

Cilindro de la bomba: En acero inoxidable

Válvulas de presión: Tres en bronce y acero inoxidable

Múltiple de succión: En bronce cromado

Múltiple de descarga: En bronce cromado

Cámara de presión: En acero inoxidable

Regulador de presión: Cuerpo y palanca en latón, tornillo de ajuste de presión metálico ensamblado en plástico

Posiciones de la palanca: Hacia arriba o hacia abajo (presión)

Manómetro: Tipo Bourdon, con escala de 0-50 kg/cm²

Presión de trabajo: Entre 5 y 20 kg/cm²

Llave de paso: Dos, en latón y de esfera

Manguera de salida: En polipropileno, de 1/4" de Ø interno y 200 m de longitud

Lanza: En latón cromado, de 80 cm. de longitud.

Boquilla: Dos de disco, ensamblados en un portaboquilla de latón cromado

Referencia de los discos: D – 35 y/o D – 6

Mangueras de succión: En caucho, de 3 m de longitud y 19 mm de Ø interno. Canastilla con filtro de 40 mallas en acero inoxidable

Mangueras de retorno: En caucho, de 3 m de longitud y 13 mm. de Ø interno

País de origen: Japón

Fabricante: MARUYAMA MFG. CO. , LTD.

Marca: Arimitsu

Modelo: CS 26 KB

Peso: 39 kg

Motor

Marca: Kawasaki

Modelo: FG – 200 G

Clase: Monocilíndrico de 4 tiempos

Cilindrada: 201 cc

Potencia (HP): 5

Revoluciones: 4.000 rpm

Sistema de encendido: Con platinos y condensador

Carburador: De flotador (Tipo Bing)

Sistema de arranque: Reversible

Bujía: NGK 4HS

Separación de los electrodos: 0,6-0,7 mm

Capacidad del tanque de combustible: 4 litros

Consumo de combustible: 1 L/h (aceleración media)

Filtro de aire: Cuerpo metálico, dos espumas y tapa plástica con 6 orificios.

Sistema de aceleración: Por palanca

Sistema de lubricación: Por salpique

Capacidad del cárter: 0,7 litros

Tipo de aceite: SAE 30 ó 40

Sistema de enfriamiento: Por aire

Sistema de parada: Por medio del interruptor o cerrando la llave de paso de gasolina.

Bomba de presión

Marca: Arimitsu

Modelo: US – 26 B

Material de construcción carcasa: Aluminio endurecido

Capacidad del depósito de aceite: 0,5 litros

Tipo de aceite: SAE 30 ó 40

Cigüeñal: En acero inoxidable

Número de levas: Tres (3)

Rodamientos: Dos de balines

Poleas: Dos, una en el motor y otra en la bomba

Tipo: De doble banda

Correas: Dos en "V", referencia Bando A- 39

Pistones: Tres (3), en acero inoxidable

Cilindro de la bomba: En bronce

Empaques del pistón: Tres por cada uno, en NBR y NBR Tex

Válvulas de presión: Tres en bronce y acero inoxidable

Múltiple de succión: En bronce

Múltiple de descarga: En bronce

Cámara de presión: En acero inoxidable

Regulador de presión: Cuerpo y palanca en latón, tornillo de ajuste de presión metálico y ensamblado en plástico

Posiciones de la palanca: A la derecha y/o izquierda

Manómetro: Tipo Bourdon, con escala de 0-50 kg/cm²

Presión de trabajo: Entre 5 y 20 kg/cm²

Llave de paso: Dos, en latón y de esfera

Manguera de salida: En polipropileno, de 1/4" de Ø interno y 200 m de longitud

Lanza: En latón cromado, de 80 cm. de longitud

Boquilla: Dos de disco, ensamblados en un portaboquilla de latón cromado
Referencia de los discos: D – 35 y/o D – 6
Mangueras de succión: En caucho, de 3 m de longitud y 19 mm Ø interno
Canastilla con filtro de 40 mallas en acero inoxidable
Mangueras de retorno: En caucho, de 3 m de longitud y 13 mm de Ø interno
País de origen: Japón



CAPÍTULO 13

Control etológico en el manejo de plagas

Luis Miguel Constantino Chuaire y Pablo Benavides Machado

Los insectos y, en general, los artrópodos y vertebrados, reaccionan ante estímulos de diversa naturaleza, siendo los químicos de gran importancia. El comportamiento está determinado por la respuesta de los insectos a la presencia u ocurrencia de estímulos que son predominantemente de naturaleza química como las feromonas, aunque también hay estímulos físicos y mecánicos. En este caso, el control etológico se refiere al uso de sustancias químicas, naturales o sintéticas, para repeler o atraer plagas a un determinado sitio, para eliminarlos, modificar su actividad sexual o alterar su orientación. Los mensajes que se envían y reciben pueden ser de tipo sexual, de alarma, de agregación y de orientación, entre otros (Coppel y Mertins, 1977; Dent 1991; Cisneros, 1995).

En la práctica, los usos del control etológico incluyen varios métodos de interferencia o supresión de plagas, mediante la utilización de feromonas o atrayentes en trampas y cebos, repelentes, inhibidores de alimentación y diversas sustancias que tienen efectos similares.

Uso de feromonas

Las feromonas son compuestos químicos complejos, básicamente hidrocarburos de cadenas largas, como: alcoholes, ésteres, ketonas y aldehídos. Muchos de estos compuestos han sido exitosamente identificados y sintetizados, los cuales están disponibles en el mercado para su uso en programas de monitoreo de plagas y como alternativa de control (Hill, 1983; Silverstein, 1981). Las feromonas son secreciones odoríferas provenientes de diferentes tipos de glándulas de los insectos, localizadas en diferentes partes del cuerpo, las cuales son secretadas por un individuo y percibidas por otro de la misma especie. Los productos de las secreciones son transportados a grandes distancias mediante corrientes de aire, y ocasionan una función específica de comunicación entre individuos de una misma especie. La complejidad de estos sistemas se observa en aquellos insectos sociales como las abejas, avispas, hormigas y termitas, en donde la comunicación entre los miembros de la colonia ocurre esencialmente con el uso de feromonas (Cisneros, 1995).

Las feromonas se clasifican según el comportamiento que producen. De esta manera se denominan sexuales cuando atraen individuos del sexo opuesto, de agregación cuando producen concentraciones de insectos en determinadas áreas. Igualmente, existen feromonas que señalan el camino que deben seguir otros individuos o para provocar alarma y dispersión entre la población (Hill, 1983; Silverstein, 1981).

Feromonas sexuales

La mayoría de feromonas sexuales identificadas, aisladas y sintetizadas son de Lepidoptera nocturnos, de algunos Coleoptera y en menor proporción de Diptera. Muchas de las feromonas sexuales son difíciles de sintetizar y costosas de producir, y esto ha conllevado al desarrollo de feromonas mímicas (compuestos análogos) o atrayentes (Cisneros, 1995). Las feromonas sexuales son emitidas por las hembras vírgenes receptivas, mediante secreciones odoríferas de llamada, para anunciar al macho receptor de su proximidad. Una vez los dos sexos están cerca ocurre el evento del cortejo, en el cual el macho mediante la presencia

de androconias odoríficas estimula a la hembra a aparearse y a reconocer al macho de su especie. La mayoría de mariposas nocturnas de las familias Saturniidae, Geometridae, Noctuidae y Arctiidae son bien conocidas por la emisión de feromonas que emiten las hembras y que logran atraer a los machos, a una distancia hasta de 5 km (Birch y Haynes, 1982; Hill, 1983). Existen dos modalidades de uso de feromonas sexuales que han logrado ser sintetizadas y comercializadas, como agentes atrayentes en trampas y cebos, o para producir confusión de machos, mediante la inundación o saturación de grandes áreas con el olor de las feromonas sexuales. El exceso de feromonas en el medio ambiente evita que los machos detecten la feromona secretada por las hembras y, consecuentemente, pierden la capacidad de encontrarla y aparearse. Ejemplos exitosos incluyen el control del gusano rosado de la India *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae) en algodón (Campion et. al., 1987) y el control de la polilla de la papa *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en almacenamiento (Raman, 1988).

Feromonas de agregación

Las feromonas de agregación estimulan a las especies a congregarse alrededor de las fuentes y recursos alimenticios, sitios de oviposición, de refugio, de colonización y de agregación de enjambres. Algunas brocas de la corteza (Scolytinae) usan feromonas de agregación para atraer otros individuos de la misma especie a árboles adecuados para colonizar. Estas feromonas son liberadas del intestino medio, a través de los excrementos que libera la hembra fundadora una vez realiza el orificio de entrada, los cuales mezclados con varios compuestos de terpenos liberados de las heridas en la corteza del árbol hospedero atraen gran número de hembras fundadoras. Este ataque masivo es esencial para la reproducción de estos insectos, para romper las defensas del árbol que responde produciendo resinas tóxicas para disuadir a los insectos invasores. Cuando el ataque de barrenado y alimentación se da de manera simultánea en el floema, se corta el flujo de savia, lo cual mata rápidamente al árbol (Wood, 1982). Este tipo de agregación también se observa en el escarabajo japonés, *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Melolonthidae) y en el picudo del algodón, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). Las capturas del picudo rayado del plátano, *Metamasius hemipterus sericeus* (Oliver) y el picudo negro de la palma africana, *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae), empleando la feromona de agregación "Combolure" es un método efectivo para reducir las poblaciones de estas plagas (Hill, 1983).

Las castas de obreras de la mayoría de hormigas forrajeras dejan caminos marcados con feromonas desde el nido, para que el resto ubiquen los sitios de forrajeo. Algunas especies de hormigas arrieras o cortadoras de hojas del género *Atta* spp., dejan caminos marcados con feromonas hasta 100 metros de distancia del nido, los cuales perduran hasta un mes; igual sucede con las termitas (Birch y Haynes, 1982).

Feromonas de dispersión

A diferencia de las feromonas de agregación, las de dispersión producen el efecto opuesto. Por ejemplo, los machos de algunas especies de escarabajos de la corteza producen feromonas después de aparearse, para repeler a otros machos que intenten aparearse, y las hembras apareadas producen feromonas de repelencia cuando no desean copular con otro macho diferente. Las moscas de la fruta de los géneros *Anastrepha* y *Ceratitis*, dejan marcados con feromonas los frutos que ovipositan, con el fin de evitar que otras hembras colonicen el mismo fruto. Los parasitoides de huevos de Lepidoptera de los géneros *Trichogramma* y *Telenomus*, una vez parasitan los huevos, los marcan con feromonas para que otras avispias no parasiten esos huevos, y así evitar que exista competencia intraespecífica (Hagen y Bishop, 1979; Birch y Haynes, 1982).

Atrayentes sexuales

Los atrayentes relacionados con la atracción sexual de los insectos son muy poderosos; pueden ser las mismas feromonas sexuales, naturales o sintéticas, o sustancias análogas (mímicas). En el laboratorio se han logrado reacciones positivas con concentraciones del orden de una millonésima de gramo de feromona por litro de aire (Shorey y Gaston, 1964). Debido a este gran poder de atracción es posible detectar con estas sustancias poblaciones muy bajas de insectos. En cierta forma, una limitación en la aplicación de los atrayentes sexuales es que no se logra atraer a las hembras, que son los individuos que depositan los huevos y contribuiría más rápidamente al control de la plaga. Las feromonas sexuales de muchas especies de insectos han sido aisladas e identificadas químicamente.

Hasta mediados de la década de los setenta, sólo se habían aislado feromonas de unas 50 especies de Lepidoptera (Tamaki, 1977). Desde entonces, el número de compuestos se ha incrementado sustancialmente y muchos de ellos se han sintetizado con fines comerciales. Varias compañías se han especializado en la producción de las sustancias activas y de sus formulaciones para usos específicos, como muestreos, capturas masivas, desorientación de apareamientos y supresión de poblaciones. Así, con el nombre comercial de *Hercon Luretape* se vende una serie de productos que atraen a la mosca mediterránea, mosca del melón, polilla de la manzana, picudo grande del algodón, gusano rosado del algodón, escarabajo japonés, gusano medidor de la col, polilla oriental de la fruta, gusano medidor de la soya, gusano cogollero del maíz, gusano mazorquero del maíz, bicho del cesto, gusano cortador negro, polilla gitana, enrollador omnívoro de la hoja, cucarachas, escarabajo perforador del durazno, gusano del brote del tabaco, y otras especies (Silverstein, 1981; Cisneros, 1995).

De la misma manera con los nombres de *Isomate*, *Rimilure* y *Pherocon* se ofrecen diversos atrayentes comerciales para plagas agrícolas, y con el nombre de *Storgard* se ofrecen atrayentes para insectos de productos almacenados. Algunos ejemplos de atrayentes sexuales que se consiguen en el mercado para el monitoreo y control de plagas son: *Medlure*, *Trimedlure* y *Siglure* para la mosca del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae); Metil eugenol para la mosca oriental de la fruta, *Dacus dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae); *Cue-lure* para la mosca del melón, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae); *Gyplure* para la polilla gitana, *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae); *Grandlure* para el picudo del algodón, *Anthonomus grandis*; *Gossyplure* y *Hexalure* para el gusano rosado, *Pectinophora gossypiella*; Z-9-DDA para el cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), entre otros (Silverstein, 1981; Cisneros, 1995).

Atrayentes de alimentación

Los principales compuestos atrayentes de alimentación son producidos basados en extractos de plantas, frutas maduras, proteínas animales y fermentos de frutas en descomposición. Estas sustancias durante el proceso de fermentación y descomposición producen aminos, sulfuros, amonio y ácidos grasos que atraen a los insectos. Un ejemplo de un atrayente de alimentación es la proteína hidrolizada, usada comúnmente como atrayente para las moscas de la fruta (Boscan, 1993; Portilla et al., 1994; Nuñez et al., 2004), entre las que se encuentran la mosca del mediterráneo, *C. capitata*, y las del género *Anastrepha*, que constituyen uno de los insectos más dañinos en los frutales. La proteína hidrolizada es usada en trampas, colocadas a una distancia adecuada entre ellas, y son muy útiles para la detección temprana de estos insectos y para la determinación de las épocas de incidencia. Igualmente, ayuda a disminuir las poblaciones de adultos en los huertos, con un trampeo suficiente y sostenido en el tiempo.

Uso de aleloquímicos

Los aleloquímicos son moléculas químicas producidas por la planta, las cuales provocan una acción determinada en ciertos sistemas biológicos. Por ejemplo, las plantas producen diferentes compuestos a través de los cuales interactúan con el entorno, actuando en la atracción de agentes polinizadores o en términos defensivos, ya sean patógenos o plagas de insectos. Entre las defensas vegetales directas, inducidas por los herbívoros, está la producción de metabolitos secundarios tóxicos o repelentes, y de moléculas volátiles como las alomonas, kairomonas y sinomonas. Las plantas responden al daño producido por los insectos liberando estos volátiles, que sirven para atraer depredadores y parasitoides que atacan y destruyen a los herbívoros. En este sentido, las kairomonas son los semioquímicos que más atención han tenido en recientes estudios, en relación con programas de manejo integrado de plagas, principalmente en la síntesis y uso de kairomonas dispuestas como atrayentes en cultivos para atraer enemigos naturales específicos a ciertas plagas, para incrementar de esta forma el control biológico natural (Eisner y Meinwald, 1995; Blanco-Metzler, 1996).

Volátiles de plantas

Muchos insectos perciben los volátiles que se liberan de las hojas de plantas y en el proceso de maduración de frutos. Estos volátiles químicos odoríficos se transportan en la atmósfera y los insectos fitófagos reaccionan

a esos estímulos químicos cuando están buscando sus plantas hospedantes. Este fenómeno se evidencia específicamente con las especies de hábitos monófagos. En el caso de las especies oligófagas, se cree que no presentan respuesta de estímulo olfativo específico o que reaccionan a compuestos químicos generales emitidos por las plantas (Hill, 1983). Los quimorreceptores del olfato están ubicados en la antena, pero en algunos Díptera y Lepidoptera diurnos estos quimorreceptores de palatabilidad están ubicados en los tarsos de las patas, los cuales usan para palpar el follaje y reconocer la planta durante la búsqueda del hospedero, para ovipositar. Sin embargo, algunas plantas, a través de intrincados procesos coevolutivos, han desarrollado repelentes químicos como estrategia para evitar el ataque de insectos fitófagos, como el caso de varios alcaloides, taninos, toxinas y otros metabolitos secundarios presentes en algunas familias de plantas. Por ejemplo, en el caso de las mariposas del género *Heliconius* que se alimentan exclusivamente de plantas de la familia Passifloraceae, como la granadilla y el maracuyá, que presentan altos contenidos de glucósidos cianogénicos, las larvas han logrado desarrollar mecanismos bioquímicos de detoxificación de estos compuestos para poderlos asimilar e incorporarlos en sus tejidos.

Otras aplicaciones del control etológico incluyen la utilización de atrayentes en trampas y cebos, en repelentes, inhibidores de alimentación y sustancias diversas que tienen efectos similares. Ejemplos de esto son la captura del picudo rayado del plátano, *M. hemipterus*, y del picudo negro del cocotero, *R. palmarum*, los cuales son atraídos a los fermentos acetilos y exudados que se producen en las heridas en la corteza de las palmas y de las musáceas, por lo tanto, una de las formas de prevención es evitar el daño mecánico en los tallos, mediante el uso de cebos atrayentes elaborados con piña fermentada y bagazo de caña de azúcar impregnada de melaza, o el uso de discos de plátano cortado, impregnados con miel de purga (Agudelo et al., 1999; Pardo et al., 2005).

Trampas contra insectos

Las trampas son dispositivos que atraen a los insectos para capturarlos o destruirlos. Comúnmente se utilizan para detectar la presencia de los insectos o para determinar su ocurrencia estacional y su abundancia, con el fin de orientar otras formas de control. Ocasionalmente, las trampas pueden utilizarse como método directo de destrucción de insectos. El uso de trampas tiene las ventajas de no dejar residuos tóxicos, de operar continuamente, de no ser afectadas por las condiciones agronómicas del cultivo y, en muchos casos, de tener un bajo costo de operación. Una limitación en el uso de las trampas es que no se conocen agentes atrayentes para muchas plagas importantes. Las trampas consisten básicamente en una fuente de atracción, que puede ser un atrayente químico o físico (la luz), y un mecanismo que captura a los insectos atraídos. Los atrayentes químicos son sustancias que hacen que el insecto oriente su desplazamiento hacia la fuente emisora. Hay dos tipos de atrayentes químicos, los relacionados con olores de alimentos y los relacionados con olores de atracción sexual entre los insectos, como se indica en la sección de feromonas. De acuerdo con el tipo de atrayente, sea físico o químico, las trampas se pueden dividir para insectos en varios tipos (Hill, 1983; Cisneros, 1995):

Trampas de luz

Durante la noche muchos insectos son atraídos hacia las fuentes luminosas y a las lámparas de luz. La región del espectro electromagnético atrayente a los insectos está en las longitudes de onda de 300 a 700 milimicrones, que corresponde a la luz natural y a las radiaciones ultra-violeta o “luz negra”, esta última es más atrayente para la mayoría de los insectos. La efectividad de la fuente de luz depende: (a) del rango de la radiación electromagnética o longitud de onda, (b) de la magnitud de la radiación, (c) de la intensidad y (d) del tamaño y la forma de la fuente de luz (Glick y Perry, 1961; Cisneros, 1995). La fuente de luz puede ser un foco común de filamento de tungsteno, una lámpara de mercurio, un tubo fluorescente de luz blanca o un tubo de luz ultravioleta. De las numerosas especies de insectos que son atraídos por la luz, la mayoría son Lepidoptera nocturnos de las familias Noctuidae, Saturniidae, Arctiidae y Geometridae, y en menor grado Coleoptera de diversas familias y otros ordenes de insectos (Hill, 1983).

Trampas de detección para monitoreo o seguimiento

Sirven para determinar las fechas de vuelo, detección temprana de una especie en una zona geográfica, inicio de la infestación estacional de una plaga, dinámica poblacional y desaparición al final de la estación.

Esta información permite orientar la conveniencia y oportunidad de las aplicaciones de insecticidas u otros métodos de control. También sirven para verificar el éxito de las medidas de erradicación que puedan haberse emprendido en un cultivo en una región específica. En el caso de las trampas con luz, la fuente luminosa se acondiciona con alerones o superficies de impacto, un embudo y un recipiente para la recolección de los insectos, a este recipiente se le adiciona alcohol del 70% o agua jabonosa para evitar que los insectos escapen. En las trampas con alcohol los insectos se conservan en buen estado para facilitar su identificación taxonómica. Si solo se trata de controlar y destruirlos, los recipientes con agua jabonosa o petróleo resultan útiles. Las trampas de luz deben estar ubicadas en sitios estratégicos en medio del cultivo, para que atraiga los insectos desde cualquier punto del cultivo, y deben estar acondicionadas con una batería o planta eléctrica portátil que permita mantener las lámparas prendidas durante la noche (Glick y Perry, 1961; Hill, 1983).

Trampas con atrayentes químicos

Estas trampas se ceban con atrayentes químicos o feromonas sexuales. Las primeras son generalistas y atraen varias especies de insectos a pequeñas distancias, mientras que las de feromonas sexuales son más específicas y tienen la ventaja de atraer los insectos desde grandes distancias. Existen varios tipos de trampas con atrayentes químicos, hechas en cartón plastificado, en forma de triángulo, cebadas en su interior con un trozo de algodón humedecido con 2,5 cc del atrayente, cada 15 días, e impregnadas en las paredes interiores con un pegante para atrapar los insectos. Por ejemplo, las trampas pegantes cebadas con *Trimedlure* son efectivas para capturar adultos de la mosca del mediterráneo *C. capitata*. Las trampas tipo McPhail son útiles para capturar moscas de la fruta, de los géneros *Anastrepha* y *Ceratitis*. Éstas vienen en forma de botella, con un embudo invertido de abajo hacia arriba, que permite que las moscas entren pero no puedan salir, en su interior se ceban con proteína hidrolizada. Para una trampa McPhail, la proteína hidrolizada (10 cc) se mezcla con 20 g de bórax como preservante en un litro de agua y se adiciona la cantidad apropiada a cada trampa (Portilla *et al.*, 1994; Nuñez *et al.*, 2004).

Trampas pegajosas de colores

Las trampas de colores vienen en cartones plastificados de forma cuadrada o rectangular, e impregnadas con una sustancia pegajosa, que puede ser un pegamento comercial especial, de larga duración, como el *Sticky Trap*, *Tanglefoot*, *Stickem* o simplemente aceite quemado de motor, grasa o aceite vegetal o mineral. Estas trampas pueden ser móviles y colgarse de las ramas de los árboles, o pueden estar fijas en estacas de madera (Bishop *et al.*, 1979). Muchos insectos son atraídos a diversos colores, y son los colores amarillos más efectivos para atraer moscas blancas, moscas minadoras de hojas, saltahojas, cicadélidos y pulgones, mientras que el blanco atrae trips y los colores rojos atraen cucarroncitos del follaje e insectos del orden Coleoptera (Smith y Bosch, 1967).

Cebos tóxicos

En los cebos tóxicos se mezclan sustancias atrayentes con un insecticida de contacto. Está orientada a controlar una especie específica, usando un atrayente sexual selectivo, el cual atrae los machos de la especie a controlar. Estos cebos se pueden impregnar en trozos de sustratos móviles como fibras o esponjas, o adicionarlos en botellas plásticas con un orificio de entrada, dispuestos en el cultivo o sitio donde se quiere hacer el control (Smith y Bosch, 1967).

Trampas para el manejo de la broca del café

Las hembras de la broca buscan colonizar nuevos frutos una vez emergen de los frutos infestados; este comportamiento parece ser generado por la atracción que generan sustancias volátiles emitidas por las cerezas de café en su proceso de maduración (Gutiérrez *et al.*, 1995; Ortiz *et al.*, 2004; Mathieu *et al.*, 1997). Varias investigaciones han concluido que la mezcla de metanol y etanol en proporción 3 a 1 ejerce una fuerte atracción a la broca (Mendoza, 1991; Herrera, 1997; Cardona, 2007). Esta mezcla liberada a una tasa diaria de 60 a 120 mg por día, es eficaz en la captura de la broca (Mendoza, 1991).

Actualmente se han diseñado trampas para la captura de adultos de broca utilizando estos alcoholes (Cárdenas, 2000). Estos dispositivos, a pesar de haber sido recomendados para monitoreo de poblaciones

en el campo, se vienen usando como estrategia de control de poblaciones de adultos que emergen de frutos del suelo y del árbol (Bustillo y Jiménez, 2003; Posada *et al.*, 2003; CRI, 2002; Dufour *et al.*, 2007; Alejo, 2007). Estas trampas han sido evaluadas en varios países durante los últimos años, y existe consenso acerca del atrayente que debe ser usado y el dispositivo adecuado para ser utilizado en el campo (Herrera, 1997; Gonzáles y Dufour, 2000; Dufour 2002; Dufour *et al.*, 2004; Bustillo, 2004; Borbón *et al.*, 2000; Bustillo y Jiménez, 2003; Posada *et al.*, 2003).

Las trampas están construidas con recipientes plásticos en series de tres unidades, y en su parte superior están cubiertas por un plato, los dos vasos superiores no tienen fondo, para que actúen a manera de embudo, y el vaso inferior funciona como depósito de agua con jabón, que rompe la tensión superficial del agua e impide que la broca vuelva a salir (Bustillo y Jiménez, 2003). Este diseño ha demostrado ser la mejor trampa para la captura de adultos de broca (Dufour, 2002). Igualmente, este dispositivo está siendo elaborado por agricultores de manera artesanal y los resultados de campo han demostrado ser similares a los obtenidos con las trampas comerciales. El difusor para el atrayente es fabricado con plástico calibre 3 y la mezcla de metanol:etanol, en proporción 3 a 1, se elabora a partir de alcoholes industriales.

Ensayos de campo realizados en El Salvador han reportado disminuciones de la infestación de la broca en el campo con el uso masivo de trampas, que oscilan entre 12 y 87% (Dufour *et al.*, 1999; Dufour, 2002). En la actualidad existe gran interés por parte de caficultores colombianos en usar estos dispositivos para el monitoreo y control de las poblaciones de broca que emergen de frutos infestados del suelo.

Resultados obtenidos con el uso de la trampas en Colombia permiten concluir que la atracción ejercida por los alcoholes promueve la formación de áreas de agregación de broca (Cenicafé, 2007), que las capturas máximas de adultos no sobrepasa el 10% de las brocas que vuelan en un radio no mayor a 5 m (Acevedo, 2006), y que a mayor porcentaje de broca en el campo mayores son las capturas en las trampas (Cardona, 2007). Estos resultados permiten recomendar estos dispositivos sólo para el monitoreo de poblaciones en cafetales en Colombia, donde la distribución de la cosecha no es concentrada. En Centro América se recomiendan para su control, debido a que la cosecha es unimodal y a que se producen vuelos de broca masivos entre los meses de abril y mayo, época en la cual las trampas pueden capturar altas poblaciones, reduciendo así sus poblaciones en cantidades importantes (Dufour, 2002; Borbón *et al.*, 2000).

Igualmente, estas trampas pueden ser de utilidad para controlar la dispersión de la broca durante la recolección y el beneficio del café cereza, así como durante la renovación de cafetales infestados. Últimos hallazgos muestran que estas trampas ubicadas en los cafetales a una altura de 0,40 m, capturan el doble de los adultos, que dispositivos a 1,50 m (Cenicafé, 2007); por lo tanto, para evitar la dispersión de la broca proveniente de frutos del suelo posterior a una cosecha, se podría recomendar localizarlas a 0,40 m del suelo.

Literatura citada

- ACEVEDO, F. E. 2006. Evaluación de marcadores físicos y moleculares para el estudio de la dispersión de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manizales, Colombia, 67 p.
- AGUDELO, R. A.; HENAO, J. F.; CONSTANTINO, L. M.; PARDO, L. C. 1999. Alternativas para el manejo integrado de plagas en chontaduro *Bactris gassipaes* H.B.K. en el litoral Pacífico vallecaucano. PRONATTA. Editorial Feriva S.A., Cali, Colombia, 42 p.
- ALEJO D., L. A. 2007. Control de la broca del café en San Luís, Potosí, México: situación actual, problemática y soluciones. *In: La broca del café en América Tropical: hallazgos y enfoques.* ECOSUR, Tapachula (México), p. 83-88.
- BIRCH, M. C.; HAYNES K. F. 1982. Insect pheromones. Edward Arnold Publishers. London. 60 p.
- BISHOP, G. W.; DAVIS, D. W.; WATSON, T. F. 1979. Cultural practices in Pest Management p: 61-71. *In: Biological Control and Insect Pest Management.* Bulletin 1911. Agricultural Experimental Station. University of California. 102 p.

- BLANCO- METZLER, H. 1996. Los semioquímicos y su papel en el manejo integrado de plagas. Memorias X Congreso Nacional Agronómico. San José, Costa Rica, p. 93-95.
- BORBÓN, O.; MORA, O.; OEHLISCHLAGER, A. C.; GONZÁLEZ, L. M. 2000. Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto de cafeto, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). In: Memorias XIX Simposio latinoamericano de caficultura, San José, Costa Rica. ICAFE-PROMECAFE, p. 331-348.
- BOSCAN, N. M. 1993. Manejo integrado de las moscas de las frutas. II Métodos de control. FONAIAP-CENIAP, No. 41. Instituto de Investigaciones Agronómicas, Maracay, 64 p.
- BUSTILLO, A. E. 2004. Un nuevo modelo de trampa para la captura de adultos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Nota Científica. Entomólogo (Colombia), 32 (97): 2 - 4.
- BUSTILLO, A. E.; JIMÉNEZ, M. 2003. Captura de adultos de broca del café en trampas con atrayentes. Brocarta No. 36, Cenicafé, Chinchiná, Colombia, 2 p.
- CAMPION, D. G.; HALL, D. R.; PREVETT, P. P. 1987. Use of pheromones in crop and stores products pest management: Control and Monitoring. Insect Sci. Applic., 8: 737-741.
- CÁRDENAS, R. 2000. Trampas y atrayentes para monitoreo de poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col., Scolytidae). In: Memorias del XIX Simposio Latinoamericano de Caficultura. San José (Costa Rica): ICAFE-PROMECAFE, p. 369 - 379.
- CARDONA, G. E. 2007. Trampas con atrayentes para la reducción de niveles de infestación de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Tesis Ingeniero Agrónomo, Manizales (Colombia), 50 p.
- CENICAfé. Centro Nacional de Investigaciones de café. 2007. Resumen del informe anual de actividades. Chinchiná, Colombia, 137 - 153.
- CISNEROS, F. 1995. Control de plagas. Segunda edición. The Hofshi Foundation, Lima, Perú, 313 p.
- COPPEL, H.; MERTINS, J. W. 1977. Biological insect pest suppression. Springer Verlag, New York, 314 p.
- CRI. Central Coffee Research Institute. 2002. Integrated management of coffee berry borer; final report - India. CFC/ICO/02. Egham (England), CABI Commodities-CFC-ICO, 85 p.
- DENT, D. 1991. Insect pest management. C.A.B. International, Oxon, U.K., 604 p.
- DUFOUR, B. 2002. Validación de la trampa Brocap para el control de la broca del café. Boletín Promecafé (Guatemala) No. 93:14 - 20.
- DUFOUR, B. P.; FRANCO, F.; HERNÁNDEZ, A. 2007. Evaluación del trampeo en el marco del manejo integrado de la broca del café. In: La broca del café en América Tropical: hallazgos y enfoques. Tapachula (México), ECOSUR, p. 89 - 99.
- DUFOUR, B. P.; GONZÁLEZ, M. O.; MAURICIO, J. J.; CHAVEZ, B. A.; RAMÍREZ, R. 2004. Validation of coffee berry borer (CBB) trapping with the Brocap trap. In: Colloque Scientifique International sur le Café, 20. Bangalore (India), October, 11-15, 2004. París (Francia), ASIC, p. 1243 - 1247.
- DUFOUR, B.; GONZÁLEZ, C. M. O.; FREROT, B. 1999. Piégeage de masse du scolyte du café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Col. Scolytidae) en conditions réelles: premiers résultats. In: XVIII Colloque Scientifique International Sur Le Café. Helsinki, Finlandia, p. 480 - 491.
- EISNER, T.; MEINWALD, J. 1995. Chemical Ecology. The chemistry of biotic interaction. Nat. Acad. Sci. Press, Washington D. C., 214 p.
- GLICK, A.; PERRY, A. 1961. Light traps for detection. In: Response of insects to induced light. U.S.D.A, ARS, 20 (10): 30 - 42.

- GONZÁLEZ, M. O.; DUFOUR, B. 2000. Diseño, desarrollo y evaluación del trampeo en el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en el Salvador. In: Memorias del XIX Simposio Latinoamericano de Caficultura. San José (Costa Rica): ICAFE-PROMECAFE, p. 381 - 396.
- GUTIÉRREZ, M., A.; HERNÁNDEZ, R., S.; VIRGEN, S. A. 1995. Efectos de los diferentes extractos de café robusta *Coffea canephora* Pierre ex Froeschner sobre la captura de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). In: Memorias del XVI Simposio Sobre Caficultura Latinoamericana. Tegucigalpa, Honduras: CONCAFE-IICA, 7 p.
- HAGEN, K. S.; BISHOP, G. W. 1979. Use of supplemental foods and behavioral chemicals to increase the effectiveness of natural enemies. In: Biological control and insect pest management. Bulletin 1911. Agricultural Experiment Station. University of California, p. 49 - 60.
- HERRERA, H. A. 1997. Búsqueda de sustancias atrayentes para la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Tesis Ingeniero Agrónomo, Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manizales, Colombia. 57 p.
- HILL, D. 1983. Agricultural insect pests of the tropics and their control. Second Edition, Cambridge University Press, p. 17 - 50.
- MATHIEU, F.; BRUN, L. O.; MARCHILLAUD, C.; FREROT, B. 1997. Trapping of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Col., Scolytidae) within a mesh enclosed environment: interaction on olfactory and visual stimuli. Journal of Applied Entomology, 121: 181 - 186.
- MENDOZA, J. R. 1991. Resposta da broca do café *Hypothenemus hampei* a estímulos visuais e semioquímicos. Teses Magister Scientiae, Universidade Federal de Viçosa, Brazil, 44 p.
- NUÑEZ, L., GÓMEZ, R.; GUARÍN, G.; LEÓN, G. 2004. Moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae) y parasitoides asociados con *Psidium guajava* L. y *Coffea arabica* (L.). en tres municipios de la provincia de Vélez, (Santander, Colombia). Revista Corpoica (Colombia), 5 (1): 1 - 8.
- ORTIZ, A.; ORTIZ, A.; VEGA, F. E.; POSADA, F. J. 2004. Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness, and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 5914 - 5918.
- PARDO, L. C.; CONSTANTINO, L. M.; AGUDELO, R.; ALARCÓN, A.; CAICEDO, B. 2005. Observaciones sobre el gualapán *Alurnus humeralis* (Coleoptera: Chrysomelidae: Hispinae) y otras limitantes entomológicas en cultivos de chontaduro en el Bajo Anchicayá. Acta Agronómica, 54 (2): 1 - 10.
- PORTILLA, M.; GONZÁLEZ, G.; NÚÑEZ, L. 1994. Infestación, reconocimiento, identificación de moscas de las frutas y sus enemigos naturales en café. Rev. Colombiana de Entomología, 20 (4): 261 - 269.
- POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E.; JIMÉNEZ, M. 2003. Seguimiento y captura de brocas usando trampas en cafetales. Brocarta No. 35, Cenicafe, Chinchiná, Colombia, 2 p.
- RAMAN, K. V. 1988. Control of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* with sex pheromones in Peru. Agriculture, Ecosystems and Environment, 21: 85-89.
- SHOREY, H. H. 1976. Animal communication by pheromones. Academic Press, New York, 167 p.
- SILVERSTEIN, R. M. 1981. Pheromones: background and potential for use in insect control. Science, 213: 1326 - 1332.
- SMITH, R. F.; BOSCH, R. V. D. 1967. Integrated control. In: Pest control-biological, physical and selected chemical methods. W.W. Kilgore; R. L. Doutt, eds. Academic Press, New York, p. 295 - 340.
- TAMAKI, J. P. 1977. Complexity, diversity and specificity of behavior modifying chemicals in Lepidoptera and Diptera. In: Insect Behavior: Theory and Application. H. H. Shorey and John J. McKelvey, Jr. eds., John Wiley and Sons, New York, p. 253-286.
- WOOD, D. L. 1982. The role of pheromones, kairomones and allomones in the host selection and colonization behavior of bark beetles. Ann. Rev. Entomol., 27: 411 - 446



CAPÍTULO 14

Control cultural en el manejo integrado de plagas

Pablo Benavides Machado y Luis Miguel Constantino Chuaire

El control cultural involucra la manipulación del ambiente para hacerlo menos favorable a las poblaciones de insectos plaga. Esto se obtiene mediante la implementación de diferentes prácticas agronómicas preventivas, por parte de los agricultores, y sirven para reducir la probabilidad de que los insectos colonicen y dañen el cultivo.

Las diferentes prácticas agronómicas como la rotación de cultivos, la destrucción de residuos de cosecha y huéspedes alternos de las plagas, el uso de cultivos trampa, la siembra intercalada, el uso de variedades adaptadas, la labranza, el volteo del suelo, la fertilización, las cosechas y siembras oportunas, generan condiciones que impiden la colonización de las plagas o retardan y reducen significativamente la infestación del cultivo, y se generan condiciones bióticas adversas que reducen las tasas de supervivencia de individuos o poblaciones de la plaga. El propósito es mantener los porcentajes de infestación de la plaga por debajo de los umbrales de daño económico del cultivo, mediante el uso de prácticas preventivas, y disminuir las probabilidades de resurgimiento de los insectos plaga (Kogan, 1986).

El conocimiento de las interacciones planta huésped y de la dinámica poblacional de los insectos plaga son fundamentales para poder adelantar estrategias de control cultural de manera oportuna, que le permitan a los agricultores predecir los períodos críticos de incidencia de la plaga y poder tomar decisiones acertadas del tipo de control a realizar.

A continuación se dan algunos ejemplos de prácticas de control cultural que impiden, retardan o reducen los niveles de infestación de las poblaciones de insectos plaga:

Rotación de cultivos

La rotación de cultivos consiste en un esquema de siembras alternadas o plantaciones susceptibles y no susceptibles a una determinada plaga. La consecuencia de la rotación de cultivos es que se recorta el ciclo de vida del insecto, especialmente para aquellos de hábitos monófagos, que presentan largos ciclos de vida en estado larval o pupal, y que presentan diapausa o estado de latencia en la etapa de pupa en el suelo. Este es el caso de varias especies de gusanos tierreros o trozadores de los géneros *Heliothis*, *Spodoptera*, *Agrotis* y *Alabama*, en cultivos de zonas templadas donde las condiciones climáticas inducen períodos prolongados de latencia o hibernación, cuando las condiciones de temperatura son desfavorables o bajas (Bishop *et al.*, 1979).

La rotación de cultivos permite que se aprovechen mejor los fertilizantes al ser estos aprovechados por más de un cultivo, esto conlleva a reducción en los costos de producción para el agricultor. Una de las consecuencias de cultivos continuos en un mismo sitio es que agota los minerales y los oligoelementos en el suelo rápidamente e induce el crecimiento gradual de plagas y enfermedades del suelo. Este efecto es más notorio en los cultivos anuales, como en el caso específico de plagas de las raíces, como los nematodos del

género *Meloidogine*, *Heterodera*, *Ditylenchus* y *Pratylenchus*, las chisas *Phyllophaga*, *Cyclocephala*, *Plectris* y *Anomala*, larvas de trozadores y cogolleros que empupan en el suelo como *Spodoptera* y *Heliothis*; y cochinillas o palomillas de la raíz de los géneros *Dysmicoccus* y *Rhyzococcus*, entre otros (Dent, 1991).

La rotación de cultivos es más efectiva contra plagas monófagas u oligófagas con huéspedes y dispersión limitada (Dent, 1991). En el caso de especies monófagas de ciclos largos, la rotación oportuna evita que las progenies de la segunda generación puedan recolonizar o infestar el cultivo de nuevo. Este es el caso para las chisas (Coleoptera: Melolonthidae) que pueden tardarse hasta un año en desarrollarse hasta adultos. La rotación de cultivos no es efectiva contra insectos migratorios o de gran capacidad de vuelo.

Si hay rotación, la nueva generación de un insecto plaga que haya permanecido en estado de diapausa en el estado pupal en la vecindad de un cultivo huésped, se encontrará con un cultivo no huésped en la próxima estación, que lo obligará a dispersarse a otro sitio o a morir por falta de alimento.

Labranza y arado del suelo

El arado y volteo del suelo antes de la siembra, afecta directamente las poblaciones de insectos plaga. Esta labor cambia y altera las condiciones microambientales del suelo como la humedad y temperatura, y las propiedades físicas y químicas por el movimiento de nutrientes, el cambio de textura y sitios de refugio, que afectan directamente la sobrevivencia de insectos plaga que viven en el suelo. Igualmente, se crean condiciones que exponen a los insectos plaga a la acción de agentes bióticos como parasitoides o depredadores, o abióticos como la radiación solar, temperatura y humedad, que ocasionan la muerte de los diferentes estados biológicos del insecto. Este tipo de labor es especialmente útil para controlar insectos nocturnos del orden Lepidoptera, particularmente de las familias Noctuidae, Geometridae y Sphingidae, al igual que individuos del orden Diptera, los cuales empupan en el suelo. De manera similar ocurre con las larvas de muchos insectos del orden Coleoptera (chisas) de hábitos rizófagos, que permanecen consumiendo raíces de las plantas y luego empupan en el suelo. Como estos insectos permanecen a una profundidad máxima de 20 cm, el arado profundo las desentierra y las deja expuestas en la superficie. Igualmente se puede producir un efecto de mortalidad por daño mecánico durante el proceso de arado, de acuerdo a las herramientas de labranza usadas; por ejemplo, en el caso de *Dectes texanus* LeConte (Coleoptera: Cerambycidae), una plaga del girasol, cuando se ara el suelo con disco mecanizado se produce una mortalidad del 73% de las larvas que permanecen en el suelo, comparado con un 39% de mortalidad cuando se usa rastrillo superficial (Hill, 1983).

La remoción y volteo del suelo igualmente destruye las raíces de muchas arvenses que sirven de alimento a plagas del suelo, como las chisas y los nematodos, que usan plantas hospederas alternas dentro del cultivo.

Remoción oportuna de residuos de cultivos

Incluye diversas prácticas agronómicas que contribuyen a reducir o eliminar los focos de plagas en un cultivo, como por ejemplo:

- Destrucción manual de partes vegetales infestadas, que pueden servir de fuente de plagas para las plantas sanas, dentro de un cultivo específico.
- Remoción de residuos vegetales, remanentes de cultivos, árboles y troncos secos o caídos, los cuales evitan que sirvan de fuente y reproducción de insectos plaga del cultivo. El picudo negro del cocotero, *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae), ataca las palmas de aceite, generalmente a través de una herida previa que causa pudrición en el tronco. Los volátiles producidos durante el proceso de descomposición y fermentación atraen al insecto, el cual continúa reproduciéndose en los troncos de palmas secas o podridas; por lo tanto, la mejor manera de cortar el ciclo reproductivo del insecto es a través de la destrucción manual o corte de zocas. Igual acontece con el picudo rayado del plátano, *Metamasius hemipterus sericeus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae), y el picudo del algodón,

Anthonomus grandis Boheman. En este sentido, la eliminación de residuos de cultivos en el campo puede ser clave para el manejo de plagas específicas, que no pueden sobrevivir en otras plantas, ya que sin alimentación, se bajan rápidamente las poblaciones.

- La recolección y destrucción oportuna de frutos caídos, secos o sobremaduros, es muy eficaz para el control de muchos insectos barrenadores y perforadores que se reproducen dentro del fruto, ya sea alimentándose de la pulpa o dentro del endospermo. Por ejemplo, las moscas de la fruta, *Anastrepha* spp., las cuales barrenan y se alimentan de la pulpa de gran cantidad de frutales y continúa reproduciéndose en los frutos caídos, en donde empupa e inicia un nuevo ciclo en frutos del árbol.

Destrucción de huéspedes alternos

Algunos insectos, especialmente áfidos, palomillas, saltahojas y cucarroncitos del follaje, se desarrollan y crecen en la periferia de cultivos susceptibles, sobre las arvenses. La remoción selectiva de estos huéspedes alternos, ayuda a retardar o prevenir la colonización del cultivo por parte de estos insectos (Bishop *et al.*, 1979).

El gusano viringo, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), es una plaga importante del cultivo del maíz, se alimenta y ataca un gran número de plantas, especialmente malezas o arvenses, pero cuando las ha consumido pasa a las plantas de maíz, causando pérdidas significativas. Se ha demostrado que la mejor táctica de manejo de esta plaga es usar herbicidas preemergentes, al menos 14 días antes de la siembra, para reducir al mínimo los sitios de oviposición y las fuentes de alimento para los primeros ínstares larvales de *A. ipsilon* (Engelken *et al.*, 1990).

En el cultivo de algodón, la destrucción de socas, inmediatamente después de finalizada la recolección de cada lote, y la destrucción de huéspedes alternos, como el algodón silvestre *Gossypium barbadense*, constituyen prácticas preventivas que permiten reducir los sustratos del picudo del algodonnero.

El complejo de las chinches del algodonnero, *Lygus* sp. (Hemiptera: Miridae), generalmente se alimenta de una gran variedad de plantas herbáceas, de la familia malvacea, presentes en la periferia del cultivo; allí se reproducen en grandes cantidades antes de colonizar el algodón. Si las chinches se controlan oportunamente, cuando se encuentran en estado de ninfas sobre estos huéspedes alternos, se reduciría significativamente la infestación en el cultivo del algodón, ya que en esta etapa de desarrollo las ninfas son ápteras e incapaces de dispersarse (Feddealgoddón, 1990).

Solarización

El uso de plásticos transparentes en el campo, dispuestos a lo largo de las camas o surcos en plantaciones de algunos cultivos, como fresa, algunas hortalizas y flores, resulta muy útil para matar insectos, al igual que nematodos fitopatógenos, semillas de arvenses y patógenos. El calor producido por estos plásticos así como la intensidad de la radiación solar, la falta de aireación y las condiciones de humedad, controlan el crecimiento de las poblaciones de plagas del suelo (Pullman *et al.*, 1984; Chellemi *et al.*, 1997).

Diversificación de cultivos y mantenimiento de arvenses

Los ecosistemas naturales contienen diversidad de flora y fauna. Esta condición crea la oportunidad para las complejas interacciones entre los artrópodos y sus enemigos naturales, que tienden a producir estabilidad con las plagas, incluso por debajo del nivel de daño económico. Como consecuencia, los problemas de plagas en fincas y áreas agrícolas diversificadas tienden a ser menores que en sitios con monocultivos. Esta práctica tiene mayor aplicación en fincas de pequeños productores, y una estrategia, por consiguiente, es el intercalamiento de cultivos y el manejo racional de las arvenses que ayudan a dispersar las plagas y ayudan a resguardar los enemigos naturales, proporcionándoles fuentes de néctar, refugio y alimento en forma de presas de insectos o fuentes de polen y miel de exudados y nectarios vegetales (Altieri y Whitcomb, 1979).

Muchas especies de enemigos naturales que parasitan o depredan sobre las plagas del cultivo, requieren en estado adulto de fuentes de alimento en forma de polen, néctar o artrópodos inocuos, que no están presentes en hábitats de cultivos particulares. Estos requisitos de alimentos se pueden suministrar para sostener poblaciones de enemigos naturales, y favorecer o desarrollar de manera deliberada ciertos hábitats de vegetación silvestre cerca de las siembras de los cultivos. Un ejemplo son los parasitoides *Telenomus* spp. y *Trichogramma* spp., que atacan huevos de muchas especies plagas del orden Lepidoptera y que requieren en estado adulto de fuentes de néctar, miel, polen y refugio que les ofrecen las arvenses que crecen en medio del cultivo, garantizando de esta forma su establecimiento y permanencia, como no sucede en cultivos sin arvenses, con altas frecuencias de aplicaciones de herbicidas e insecticidas (Altieri y Whitcomb, 1979).

Una opción más conveniente para el manejo ecológico de las arvenses es el uso de leguminosas de cobertura como el frijol de espada, *Canavalia ensiformis*, terciopelo *Mucuna pruriens* y *Crotalaria* sp., entre otros, los cuales además fijan nitrógeno, conservan la humedad y controlan o repelen plagas con los exudados de la raíz (Aguiar y Das, 2001).

Cultivos trampa

El uso de cultivos trampa sembrados en la periferia del cultivo o entre los surcos ayuda a concentrar o repeler los insectos plaga. Estudios realizados en Panamá han determinado la eficiencia de la *Crotalaria juncea* intercalada con yuca como una alternativa para disminuir los daños causados a las raíces por la chinche de la viruela, *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) (Aguilar 2003). Numerosas especies de plantas poseen cualidades insecticidas, es decir, que pueden afectar el desarrollo de los insectos y otros organismos o también pueden actuar como repelentes. *Crotalaria juncea* es conocida por poseer cualidades insecticidas y nematocidas. Otro ejemplo es el caso de la higuera, *Ricinus communis*, el ajonjolí, *Sesamum indicum*, la canavalia, *Canavalia ensiformis*, y la batata, *Ipomoea batata*, que son plantas tóxicas para el hongo simbiote *Attamyces bromatificus* que cultiva la hormiga arriera, *Atta cephalotes*. El cultivo de estas plantas resulta efectivo para disminuir las hormigas cuando éstas cortan las hojas y las introducen a los nidos, matando y contaminando el hongo que les sirve de alimento (Madriral y Yepes, 1997).

En el cultivo del algodón, para el monitoreo y manejo del picudo del algodonoero, *A. grandis*, se recomienda dejar islas de socas y trampas con feromonas tan pronto termine la cosecha, las cuales deben recibir aspersiones de insecticida a los ocho días de destruida la soca. La soca debe cortarse y quemarse a los cuatro días, para evitar la propagación y los refugios del picudo. Este tratamiento se refuerza con trampas con feromonas, que deberán renovarse cada siete días, por unos 30 días después de eliminadas las socas. Igualmente la siembra temprana de cultivos trampa y el uso de trampas con feromonas 30 a 60 días antes de la siembra comercial, en pequeñas áreas de algodón, de cuatro surcos y una longitud entre 40 y 400 metros, localizadas en la periferia del lote, sirven como medio de detección y control de las poblaciones iniciales de picudos. En el momento de la aparición de los botones florales en el cultivo comercial, se deben retirar las trampas con feromonas y eliminar el cultivo trampa (Falcon y Smith, 1974).

Momento oportuno de siembra y cosecha

La siembra oportuna de algunos cultivos y la cosecha temprana reducen la incidencia de muchas plagas ya que las plantas o frutas quedan menos tiempo expuestas a las plagas. Alteraciones en las fechas de siembra y de cosecha, frecuentemente pueden resultar en que las plantas escapen a la infestación de las plagas, si se tiene en cuenta la dinámica poblacional cíclica que presentan muchas especies de insectos plaga. Para esto es conveniente conocer las fechas de aparición de las plagas (fechas de vuelo y estacionalidad), que pueden ser monitoreadas con trampas atrayentes o de feromonas, para adelantarse y minimizar de esta forma la infestación en la etapa vulnerable de la siembra o cosecha del cultivo. Por lo tanto, el conocimiento de la fenología del cultivo y la dinámica poblacional de la plaga requieren acciones de control oportunas, simultáneamente con la siembra del cultivo y durante todo el período de floración (Romero, 2004).

En el cultivo de algodón en regiones donde hay presencia del picudo del algodonoero, se debe dar cumplimiento a las fechas límites para la siembra. Estas se deben hacer en una zona en un período no mayor a 30 días,

además de muestreos quincenales en épocas en que esté ausente el cultivo y semanales durante el período de cultivo, por medio de trampas tipo “scout” o estacas cebadas con feromona sexual e impregnadas con una sustancia adherente, con el fin de disminuir su incidencia hacia finales del ciclo. En Colombia, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) mediante resoluciones por ley, fija las fechas correspondientes a la siembra y cosecha del algodón en las diferentes regiones del país, con el fin de establecer acciones para la prevención, manejo y erradicación zonal o regional de plagas y poder ejercer control sobre el cultivo, y así evitar que las plagas, como el picudo, se mantengan durante todo el año¹. De esta manera, cuando se siembra algodón en el Norte del país, no se siembra en las zonas del Centro y Sur, y viceversa.

Fertilización y crecimiento óptimo

Una planta saludable y vigorosa es menos vulnerable o puede tolerar mejor el ataque de insectos plaga, y el vigor de las plantas depende en gran medida de la fertilidad del suelo. Igualmente, condiciones climáticas adecuadas, con buena oferta de agua y temperatura, son factores que determinan el crecimiento óptimo de las plantas. Cuando alguno de estos factores no es adecuado, la planta sufre y debilita sus mecanismos de defensa, lo cual la hace más susceptible al ataque de las plagas (Hill, 1983).

Tratamiento de calor o frío

El tratamiento de calor o frío se aplica para los granos almacenados. Los sistemas de secado de granos almacenados en silo con aire natural a baja temperatura, o aire calentado hasta 7°C por encima de la temperatura ambiente, ayudan a evitar y controlar gran cantidad de plagas y hongos. Estos sistemas de secado deben contar con buenos sistemas de ventilación de aire, siendo de preferencia los sistemas con piso plano totalmente perforado.

El control cultural y la broca del café en Colombia

El control cultural es considerado el pilar fundamental del manejo integrado de la broca del café en Colombia (Bustillo *et al.*, 1998). Varias investigaciones han demostrado su utilidad en el control de la broca, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), las cuales comprenden la recolección oportuna de frutos maduros, para evitar la caída de éstos y cortar el ciclo biológico de la broca (Benavides *et al.*, 2002), la realización del “repase” o recolección de frutos maduros, sobremaduros y secos posterior a la cosecha (Benavides *et al.*, 2002; Baker, 1999), el uso de marquesinas para el secado solar del café de menor calidad, denominado “flotes y pasillas” (Vélez *et al.*, 2002), y la remoción de los frutos de café y el uso de árboles trampa durante la renovación de cafetales infestados (Castaño *et al.*, 2005).

Con el fin de determinar la participación de cada componente del manejo integrado de la broca del café, se realizó una investigación en donde cuatro tratamientos que contenían control cultural fueron comparados con dos tratamientos que consistieron en cosechar café de manera tradicional y utilizar el control químico como única estrategia de control de la broca en el campo (Benavides *et al.*, 2002). En esta investigación se evaluaron estrategias biológicas, químicas y culturales, para el control de este insecto. El control cultural se asumió como la recolección oportuna de cerezas de café maduras y la realización de dos repases en el año al finalizar la cosecha principal en el mes de noviembre, y al finalizar la cosecha de “mitaca” en el mes de junio, en la zona central cafetera colombiana. El control biológico consideró la aspersión de *Beauveria bassiana* y el control químico se realizó con aplicaciones de insecticidas de categoría III como pirimifos-metil, clorpirifos y fenitroton, en el momento en que la infestación en el campo fue superior al 2% y en que más del 50% de los adultos de broca estaban en posición de entrada en los frutos (Bustillo *et al.*, 1998). Estos tres componentes y algunas combinaciones de éstos, se evaluaron en cinco fincas cafeteras (bloques), del municipio de Pereira, bajo un diseño de bloques completos aleatorios. En cada finca se tuvo como unidad

¹ Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. 2002. Informe de gerencia. Bogotá, Colombia

de trabajo un lote de 1.500 árboles, donde se evaluaron las variables promedio de infestación por árbol -mes, tasa diaria de infestación en la fase de crecimiento y el promedio de la infestación en café pergamino. Igualmente, se obtuvo el ingreso total y el margen de contribución económica. El porcentaje de infestación por broca en el campo en los tratamientos que contenían control cultural no sobrepasó el 5% durante la cosecha principal, mientras que aquellos que utilizaron insecticidas químicos o no tuvieron ningún tipo de control, la infestación durante la cosecha principal estuvo alrededor de 15 y 25%, respectivamente.

Los resultados obtenidos en esta investigación permitieron concluir que el control cultural fue el componente más importante en el manejo integrado de la broca, y que incluso realizado como estrategia única de control, mantuvo las poblaciones por debajo del nivel de daño económico durante la cosecha principal. Se obtuvo además, una mayor producción de café, mayores ingresos y márgenes de contribución económica, debido a que no se dejaron caer los frutos. Estos resultados parecen controvertir los reportes de Baker (1999) cuando indica que el repase como práctica de control cultural es difícil de ejecutar y parece no aportar en el control de la broca; sin embargo, está de acuerdo en que mejor que realizar el repase, se debe cosechar el café maduro de manera eficiente para mantener los niveles de broca bajo control. Dado que la recolección del café es una práctica compleja, en la cual la eficiencia de la labor depende de factores como el clima, la experiencia de la mano de obra, la oferta de frutos, la edad del cafetal y la pendiente donde se encuentra el cultivo, entre otros, la recomendación debe estar dada tanto para la recolección oportuna, como la realización del repase.

El uso de la solarización está siendo recomendado para evitar la dispersión de la broca durante el secado de café de baja calidad (Vélez *et al.*, 2002), denominado “flotes y pasillas”; que son el café que flota durante el transporte de los volúmenes despulpados antes de ser fermentado (Moreno *et al.* 2001). Este café contiene las mayores poblaciones de broca que potencialmente pueden regresar al cafetal durante la recolección y el beneficio del café (Moreno *et al.*, 2001; Castro *et al.*, 1998). Vélez *et al.* (2002) recomiendan secar este café en marquesinas construidas en madera, cubiertas por plástico y cerradas en los extremos con muselina. Esta muselina permite la aireación normal dentro de la marquesina y secado del café, pero evita el escape de la broca hacia el cafetal. Este dispositivo ha demostrado aumentar la temperatura hasta 30°C durante 5 horas, entre las 11 de la mañana y las 4 de la tarde, tiempo suficiente para ocasionar la muerte de la broca en los frutos antes de que escapen. Se estimó una supervivencia de broca de tan sólo 0,01% cuando se utiliza este secador parabólico.

La FNC de Colombia ha recomendado la renovación de las plantaciones por medio del zoqueo, para mantener un promedio de producción alto y rentable por unidad de superficie (Cenicafé, 1992) y para contribuir al control de la broca (Benavides y Arévalo, 2002). Esta actividad consiste en cortar el tallo principal de la planta de café, a 30 cm del suelo, con el fin de permitir la emisión de brotes ortotrópicos que reemplazarán al tallo cortado. Finalmente, estas nuevas plantas alcanzarán, al menos, la productividad de un cafetal nuevo (Mestre y Arboleda, 1999; Uribe, 1977). El zoqueo debe realizarse posterior a la cuarta o quinta cosecha y se recomienda realizarlo en una quinta parte de la plantación total de café, para mantener un promedio de la producción anual estable en la finca. El momento oportuno para realizar el zoqueo es posterior a la cosecha principal, ya que el árbol tiene menos flores y frutos, y coincide con la época seca que limita el desarrollo de enfermedades. El zoqueo requiere de la eliminación total de las ramas, aún aquellas con remanente de frutos. Se recomienda dejar estas ramas bien distribuidas en el suelo, para que aporten materia orgánica, impidan el crecimiento de arvenses por algún tiempo, y protejan el suelo de la erosión (Mestre y Arboleda, 1999). Lastimosamente estas prácticas de cultivo benefician el desarrollo, reproducción y dispersión de la broca del café en el campo (Castaño *et al.*, 2005, 1998; Moreno *et al.*, 2001).

En estudios recientes en Colombia, se evaluó la cantidad de adultos de broca que quedaron en los frutos del suelo después de la eliminación del cafetal, su desarrollo biológico en los frutos infestados, la emergencia de adultos y el impacto de estos vuelos de broca en los porcentajes de infestación de los cafetales vecinos (Castaño *et al.*, 2005). Se encontró que aunque los frutos verdes caídos al suelo presentaron menor porcentaje de infestación y menor número de estados biológicos del insecto, éstos suministraron el mayor número de brocas. De los cafetales evaluados, que presentaron una infestación inicial en el campo entre 20 y 25%, se estimó una emergencia entre 2.500.000 y 3.600.000 adultos de broca por hectárea, que volaron provenientes de frutos infestados del suelo. Estos fueron capturados en un 80%, durante los primeros 60

días posteriores a la eliminación de las ramas del árbol con frutos de café. La broca continuó su desarrollo biológico en los frutos hasta 100 días después, tiempo en el cual el 60% de los frutos infestados evaluados no presentaban estados biológicos vivos de broca en su interior. Se observó un notorio incremento de los porcentajes de infestación por broca hasta una distancia de 30 metros del cafetal zoqueado, sin embargo, los primeros cuatro surcos de café aledaños al lote zoqueado fueron los más afectados. Los resultados de este experimento permitieron recomendar, como medida de control cultural, la eliminación total de los frutos antes de renovar el cafetal para evitar la reproducción y dispersión del insecto en el campo.

En otro estudio Mejía *et al.* (2006) demostraron que la recolección de los frutos, previo al zoqueo de cafetales infestados, disminuyó la cantidad potencial de broca, pero demostró ser de difícil ejecución, de baja eficiencia y poco eficaz, cuando se realiza de manera manual. Sin embargo, los niveles de infestación en el campo sí fueron menores en comparación con lotes de café, donde no se realizó la cosecha de frutos. Se evaluó preliminarmente un dispositivo raspador selectivo de frutos de café, diseñado en Cenicafé y denominado "Raselca", el cual no mejoró el rendimiento de la recolección, pero tiene potencial para ser usado con algunas modificaciones. Resultados recientes de investigación permitieron conocer que el uso de guantes de cuero de cerdo durante la eliminación total de los frutos, facilita la labor y permite eliminar mayor cantidad de broca en el cafetal.

Otra labor de control cultural, recomendada en el cultivo del café para el control de la broca, incluye los árboles trampa durante el zoqueo de cafetales infestados (Bustillo *et al.*, 1998; Cenicafé, 1994). Los árboles trampa son plantas que se dejan en el cafetal con todos sus frutos, de los cuales se cosechan periódicamente todos los frutos infestados por broca (Cenicafé, 1994). Se recomienda dejar estos árboles en la periferia del lote por renovar, aledaños a otros cafetales a manera de barrera. Deberán permanecer en el cafetal alrededor de 60 días posterior al zoqueo del lote, tiempo después del cual se le deben recolectar todos sus frutos a manera de cosecha sanitaria.

Otras maneras de control cultural de la broca del café comprende el uso de las fechas de floración, con el fin de hacer seguimiento para predecir y planear la aplicación oportuna de insecticidas de contacto para el control del insecto (Bustillo *et al.*, 1998). Igualmente, se puede considerar como control cultural el secado de café en silos con aire caliente, a temperaturas de 55°C. Esta temperatura sería suficiente para matar la broca en granos infestados que llegan al beneficio (Moreno, 2001).

Literatura citada

- AGUIAR, A.; DAS, C. F. 2001. Efecto de especies usadas como abono verde en el enriquecimiento de la fertilidad del suelo y en el manejo de plagas. Tesis (M. Sc.) CATIE, Turrialba (Costa Rica), 93 p.
- AGUILAR, J. A. 2003. Estrategias para el manejo integrado del chinche subterráneo *Cyrtomenus bergi* Froeschner. Programa de Investigación en raíces y tubérculos. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). 2 p.
- ALTIERI, M. A.; WHITCOMB, W. H. 1979. The potential use of weeds in the manipulation of beneficial insects. Hort. Science, 14 (1): 12-17.
- BAKER, P. S. 1999. The coffee berry borer in Colombia. Final report of the DFID-Cenicafé-CABI Bioscience IPM for coffee project (CNTR 93/1536A). Chinchiná (Colombia), Cenicafé-CABI publish. 146 p.
- BENAVIDES, P.; ARÉVALO, H. 2002. Manejo integrado: una estrategia para el control de la broca del café en Colombia. Revista Cenicafé (Colombia), 53 (1): 39-48.
- BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E.; MONTROYA, E. C.; CÁRDENAS, R.; MEJÍA, C. G. 2002. Participación del control cultural, químico y biológico en el manejo de la broca del café. Revista Colombiana de Entomología (Colombia) 28 (2): 161-165.
- BISHOP, G. W.; DAVIS, D. W.; WATSON, T. F. 1979. Cultural practices in Pest Management.. In: Biological Control and Insect Pest Management. Bulletin 1911. Agricultural Experimental Station. University of California. 102 p.

- BUSTILLO, A. E., CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D. A., BENAVIDES, P.; OROZCO J.; POSADA, F. J. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Cenicafé, Chinchiná Editorial Feriva S. A., Cali, Colombia. 134 p.
- CASTAÑO, A.; BENAVIDES, P.; BAKER, P. 2005. Dispersión de *Hypothenemus hampei* en cafetales zoqueados. Revista Cenicafé (Colombia), 56 (2): 142-150.
- CASTRO, L.; BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E. 1998. Dispersión y mortalidad de *Hypothenemus hampei*, durante la recolección y beneficio del café. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 50:19-28. 1998.
- CENICAFÉ. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. 1992. La renovación de los cafetales por zoca. Cenicafé, Avances Técnicos No. 174, Chinchiná, Colombia, 8 p.
- CENICAFÉ. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. 1994. Cómo renovar cafetales que presenten infestaciones de la broca del café. Brocarta, No. 21, Chinchiná, Colombia, 2 p.
- CHELLEMI, D. O.; OLSON, S. M.; MITCHELL, D. J.; SECKER, I.; MCSORLEY, R. 1997. Adaptation of soil solarization to the integrated management of soilborne pests of tomato under humid conditions. Phytopathology, 87: (3): 250 – 258.
- DENT, D. 1991. Insect pest management. C.A.B. International, Oxon, OX10 SDE, U.K., 604 p.
- ENGELKEN, L. K.; SHOWERS, W. B.; TAYLOR, S. E. 1990. Weed management to minimize black cutworm (Lepidoptera:Noctuidae) damage in no-till corn. J. Econ. Entomol., 83: 1058-1063.
- FALCON, L. A.; SMITH, R. F. 1974. Manual de control integrado de plagas del algodón. FAO, Roma, AGPP: Misc.8. 87 p.
- FEDERALGODÓN. FEDERACIÓN NACIONAL DE ALGODONEROS. 1990. Bases técnicas para el cultivo del algodón en Colombia. División técnica Federalgodon. Editora Guadalupe Ltda., Bogotá, Colombia. 714 p.
- HILL, D. 1983. Agricultural insect pests of the tropics and their control. 2nd edition, Cambridge University Press. p. 17-50.
- KOGAN, M. 1986. Ecological theory and integrated management practice, Kogan, M. (Ed). Wiley-Interscience, New York, 362 p.
- MADRIGAL, A.; YEPES, F. 1997. Las hormigas cortadoras de hojas (Hymenoptera: Formicidae). Cuadernos divulgativos en Entomología. No.3. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 47 p.
- MEJÍA, C. G.; BUSTILLO, A. E.; DUQUE, H.; MONTOYA, E. C.; BENAVIDES, P. 2007. Análisis biológico y económico del manejo integrado de la broca en la renovación de cafetales. Revista Cenicafé (Colombia), 58 (2): 99- 110.
- MESTRE, A.; ARBOLEDA, C. 1999. Aumente la densidad de población de los cafetales y la productividad, sin costos adicionales. Cenicafé, Avances Técnicos No. 263, Chinchiná, Colombia, 4 p.
- MORENO, D. P.; BUSTILLO, A. E.; BENAVIDES, P.; MONTOYA, E. C. 2001. Escape y mortalidad de *Hypothenemus hampei* en los procesos de recolección y beneficio del café en Colombia. Revista Cenicafé (Colombia), 52 (2): 111-116.
- PULLMAN, G. S.; DE VAY, J. E., ELMORE, C. L.; HART, W. H. 1984. Soil solarization. A nonchemical method for controlling diseases and pests. Leaflet 21377. Cooperative Extension, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 15 p.
- ROMERO, F. 2004. Manejo integrado de plagas. Bases y conceptos. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 103 p.
- URIBE, A. 1977. Zoqueo de cafetales. Cenicafé, Avances Técnicos No. 66 Chinchiná, Colombia, 4 p.



CAPÍTULO 15

Uso de genes para incrementar la resistencia de plantas a insectos herbívoros

Carmenza Esther Góngora Botero y José Ricardo Acuña Zornosa

Históricamente el control de insectos en cultivos comerciales se ha basado predominantemente en el uso de insecticidas. Sin embargo, debido a la falta de actividad de algunos de ellos, al desarrollo de la resistencia de los insectos y, a que en años recientes, el uso de insecticidas se ha regulado y limitado cada vez más, debido a los peligros potenciales que éstos pueden causar a la salud humana y al medio ambiente, los investigadores se han visto en la necesidad de buscar otras alternativas para el control de los insectos, más específicos al insecto plaga y ambientalmente benignos. Una de estas alternativas ha sido el desarrollo de plantas resistentes, que manifiesten genes de resistencia que se encuentran en la misma especie, pero en plantas no cultivadas o en especies relacionadas genéticamente, ésto es lo que se conoce como mejoramiento genético tradicional. Sin embargo, esta alternativa es limitada, debido al poco número de fuentes de resistencia que se encuentran en las plantas. No obstante, la tecnología de la ingeniería genética ha permitido la introducción de genes de cualquier especie en cualquier planta, a estas plantas se les conoce como plantas transgénicas o modificadas genéticamente, y de esta manera ha sido posible obtener resistencia a insectos en las principales especies cultivadas en el mundo (Fujimoto *et al.*, 1993; Perlak *et al.*, 1990; Thomas *et al.*, 1994). En los últimos 10 años, se han liberado comercialmente plantas transgénicas protegidas contra insectos, para el caso de cultivos de maíz, algodón, hortalizas y papa (Peferoen, 1997).

Las primeras plantas transgénicas registradas en la literatura se produjeron en la década de 1980 a 1990. Primero, estas plantas se transformaron con genes de bacterias que conferían resistencia a antibióticos tipo kanamicina (Bevan *et al.*, 1983; Fraley *et al.*, 1983; Herrera-Estrella *et al.*, 1983). En la década de los noventa la adopción de esta tecnología permitió uno de los mayores cambios con respecto al desarrollo de cultivares resistentes a artrópodos e insectos. Las transformaciones, utilizando el sistema de *Agrobacterium* y los equipos de biolística, fueron usadas para transferir genes de bacterias, plantas y artrópodos, dentro de los genomas de varios tipos de plantas para crear plantas resistentes al ataque de insectos (Smith, 2005).

El uso de plantas transgénicas para el control de insectos tiene varias ventajas en comparación con los métodos de mejoramiento genético tradicional, entre éstas se pueden citar: 1) La tecnología transgénica permite la transferencia de información genética de una especie a otra, de esta manera una característica que evolucionó para el beneficio de una especie puede ser directamente utilizada por otra especie. Estas dos especies podrían estar tan lejanamente relacionadas, que esta característica nunca podría ser transferida por mecanismos naturales (por ejemplo, el movimiento de proteínas insecticidas bacterianas en las plantas); 2) los caracteres de resistencia a insectos en plantas son determinados a menudo por genes múltiples, posiblemente localizados en diversos cromosomas, esto hace difícil la transferencia de estos rasgos de un cultivo a otro; 3) en la introducción directa de un gen de resistencia en germoplasmas comerciales, no se observa ninguna transferencia de rasgos indeseables junto con los rasgos deseados. Se introduce una característica específica sin arriesgar las características alimenticias del cultivo (Duck y Evola, 1997).

Sin embargo, la creación de plantas transgénicas resistentes a insectos, tiene desafíos técnicos considerables: el primer paso consiste en la identificación y la caracterización de los factores de la resistencia y de los genes

que los codifican. El factor de resistencia debe satisfacer tres características: a) la planta transformada debe producir los factores transgénicos, en niveles lo suficientemente altos para afectar el insecto plaga; b) el factor no debe interferir con el funcionamiento agronómico normal de la planta; y c) el factor de resistencia debe afectar en lo posible al insecto plaga sin causar daño a otros organismos. El segundo paso en la producción de las plantas transgénicas, es el desarrollo de sistemas de regeneración y transformación, específicamente en genotipos en los que se produzca la inserción del DNA y una estable heredabilidad de éste. Los procedimientos para desarrollar eventos de transformación en variedades o cultivares élitos aceptados y usados por los agricultores, dependen del método de propagación y las bases genéticas de la especie cultivada.

Las plantas transformadas que se identifiquen con las nuevas características introducidas deben ser propagadas vegetativamente y analizadas genotípicamente y fenotípicamente en varios medios ambientales, por varios años, para asegurar que la línea transgénica es igual a la línea no modificada genéticamente, excepto por el gen de interés (Duck y Evola, 1997).

Se deben desarrollar métodos de muestreo en el campo que permitan demostrar claramente la resistencia de las plantas transgénicas. También es importante establecer estrategias de manejo para evitar el desarrollo de resistencia; además, cada país debe establecer regulaciones ambientales y de riesgos para el uso de estas plantas en una forma segura.

Estos desarrollos también contemplan llevar registros minuciosos para permitir la comercialización de los productos y considerar todos los aspectos relacionados con la propiedad intelectual. Finalmente, para que la planta transgénica sea exitosa debe cumplir con las expectativas de los cultivadores, comercializadores, los supermercados, los consumidores y todas las regulaciones gubernamentales de cada país, al igual que las internacionales, si estos productos se van a exportar.

Factores de resistencia proteicos en plantas transgénicas

La importancia de entender el modo de acción de los factores de resistencia proteicos es crítica para determinar si la proteína será efectiva en la planta transgénica. Por ejemplo, las proteínas que son activas solamente en altas concentraciones no se pueden expresar en plantas transgénicas, en niveles suficientemente altos para afectar los insectos. Por otra parte, si la proteína se expresa en niveles muy altos ésta puede causar fitotoxicidad a la planta.

Un número limitado de productos naturales se han caracterizado e identificado como agentes defensivos eficaces contra insectos herbívoros. Esos factores de resistencia naturales incluyen:

- Las proteínas que alteran componentes básicos en la dieta de los insectos, privándolos de alimentos o generando compuestos tóxicos, sin embargo no actúan directamente sobre el intestino del insecto como sitio de acción primario. En este grupo están las polifenoloxidasas, las cuales modifican las proteínas en la dieta de los insectos (Felton *et al.*, 1992), y la invertasa y la hexosiltransferasa, que modifican los azúcares (Purcell *et al.*, 1994).
- Las proteínas que privan a los insectos de nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo. Pertenecen a este grupo: Lectinas, inhibidores de proteinasas e inhibidores de α -amilasas. Las lectinas se unen directamente a los nutrientes y los secuestran, mientras que los inhibidores de proteinasas y los inhibidores de α -amilasas interfieren con las enzimas digestivas de los insectos, y por lo tanto, hacen la digestión menos eficiente.
- Las proteínas que atacan la integridad del epitelio del intestino de los insectos. Hasta el momento se han identificado en este grupo las endotoxinas del *Bacillus thuringiensis*, colesterol oxidasas (Purcell *et al.*, 1993; Shen *et al.*, 1997), lípido acil hidrolasas (Strickland *et al.*, 1995) y las enzimas quitinolíticas o quitinasas, que actúan en un ambiente alcalino (Broadway *et al.*, 1998; Góngora *et al.*, 2001).

En esta revisión nos enfocaremos en la discusión de estos grupos, su efecto sobre los insectos, el éxito de esta planta en el control de insectos y posibles riesgos.

A nivel experimental las proteínas que se han utilizado para producir plantas transgénicas resistentes a insectos incluyen: los inhibidores de proteinasas, lectinas, inhibidores de α -amilasas, las endotoxinas del *Bacillus thuringiensis* y las enzimas quitinolíticas. Sin embargo, las únicas plantas liberadas con propósitos comerciales, son las que contienen los genes *Cry* de *Bacillus thuringiensis* (James, 2004).

Genes *Cry* de *Bacillus thuringiensis* como fuente de resistencia contra insectos

En general, *B. thuringiensis* y los cristales de δ endotoxina tienen una larga historia de uso como una estrategia de control biológico de insectos (Schenpf *et al.*, 1998), éstos han sido usados en aplicaciones tópicas en muchos cultivos desde la época de 1960 (Menn y Hall, 1999). El uso de Bt, históricamente ha demostrado ser específico y seguro y ha sido empleado asperjándolo sobre plantas y semillas en almacenamiento, de tal forma que los insectos plaga al consumir las hojas o perforar los granos almacenados mueren.

Durante la esporulación, la bacteria *B. thuringiensis* produce una serie de proteínas insecticidas que se ensamblan en un cristal paraesporal, las proteínas individuales dentro del cristal están codificadas por genes plasmídicos y cromosomales denominados genes *Cry*. Hoy en día se conocen cientos de genes identificados y existe una nomenclatura estándar para su descripción, basada en las similitudes de sus secuencias de DNA (Llewellyn y Higgins, 2002).

Los genes *Cry* que codifican las proteínas *Cry*, presentan un modo de acción complejo con varios componentes. Para que la proteína tenga una función insecticida, ésta debe ser ingerida por el insecto y debe alcanzar el intestino, donde debido al alto pH de éste, se solubiliza y cliva proteolíticamente, de tal forma que se libera la parte activa de la proteína, la cual es resistente a degradaciones adicionales que puedan ser producidas por proteasas del intestino (Lilley *et al.*, 1980; English y Slatin, 1992). La proteína activa se une a receptores específicos, localizados en las células epiteliales del intestino medio de los insectos susceptibles, y se inserta dentro de las membranas y forma poros ion específico (English y Slatin, 1992). Las células se inflaman debido al paso de iones y agua dentro de ellas, ocasionando lisis celular, que finalmente conllevan a la muerte de los insectos (Höfte y Whiteley, 1989).

Los tejidos del tracto digestivo de los insectos que no son plagas, mamíferos, pájaros y peces no contienen los receptores que puedan unirse a las proteínas *Cry* (Noteborn y Kuiser, 1994; Sacchi *et al.*, 1986; Van Mellaert *et al.*, 1988). Por lo tanto, estas proteínas no tienen efectos tóxicos en insectos que no son plagas y sólo se consideran tóxicas contra insectos de los órdenes Lepidoptera, Diptera y algunos Coleoptera (Siegel 2001, Betz *et al.* 2000; Hofmann *et al.* 1988).

En los primeros experimentos con los genes de las proteínas de cristal Bt, los genes fueron clonados en un vector T-DNA e introducidos en tabaco y tomate, usando *Agrobacterium tumefaciens* (Adang *et al.*, 1988; Barton *et al.*, 1987; Fischhoff *et al.*, 1987; Vaeck *et al.*, 1987). Los intentos iniciales de expresión de los genes *Cry* no fueron muy exitosos, y esto en parte se atribuyó al origen bacteriano de ellos, a su alto contenido de bases AT en el ADN, que resultó en bajos niveles de expresión de la proteína en plantas. Sin embargo, la resíntesis de los genes *Cry*, optimizando la secuencia de nucleótidos, al igual que el incremento del contenido de GC en el ADN del gen, la utilización exclusiva de la porción del gen que codifica para la toxina activa y la remoción de señales de poliadenilación crípticas en las plantas, mejoraron la preferencia de codones y permitieron incrementar los niveles de expresión en plantas (Perlak *et al.*, 1991).

La primera generación de plantas Bt producidas, poseía un gen Bt simple y sintético que correspondió a una de estas cinco endotoxinas Bt, *Cry1Ab*, *Cry1Ac*, *Cry3a*, *Cry9C* o *Cry1F*. Las proteínas estaban bajo el control de un promotor constitutivo (Perlak *et al.*, 1990). Los mejores resultados con estas plantas correspondieron al desarrollo de plantas con más de un gen *Cry*, agrupando de esta forma múltiples genes de resistencia en una planta o cultivar, ampliando de esta manera el espectro de acción contra más de un insecto. A estas

plantas se les conoce como la segunda generación de plantas Bt, y se espera que tengan un mayor impacto sobre la producción agrícola (Koul y Dhaliwal, 2004).

En el caso particular del algodón transgénico, Bollgard® de Monsanto, el cual produce la proteína Cry1Ac y que ha sido adoptado desde 1996, éste es resistente a varios lepidópteros como el gusano del tabaco (*Heliothis virescens*), el gusano rosado del algodón (*Pectinophora gossypiella*) y el gusano bellotero del algodón (*Helicoverpa zea*) (Carpenter y Gianessi, 2001). Los agricultores que usan algodón Bollgard® aplican significativamente menos insecticidas y muestran mayores producciones (Fernández-Cornejo y McBride, 2000). Este algodón se ha cultivado en más de 32 millones de acres, desde que fue introducido a Estados Unidos en 1996 (James, 2002). Hasta el momento no ha mostrado efectos negativos en el ambiente o en otros organismos (Hamilton *et al.*, 2002; Monsanto, 2002).

La introducción de algodón Bollgard II, que produce tanto la proteína Cry1Ac como la proteína Cry2Ab2, se espera que tenga mayores beneficios para los agricultores, ya que además de controlar los gusanos del algodón y el tabaco, controla algunas plagas secundarias de lepidópteros como la rosquilla verde (*Spodoptera exigua*) y el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*). La combinación de la proteína Cry2Ab con Cry1Ac se espera que provea una herramienta adicional para retardar el desarrollo de la resistencia, debido a que los dos tipos de proteínas tienen un modo de acción diferente (Crickmore *et al.*, 1998).

Los genes *Cry* de longitud completa, truncados o modificados, han sido expresados en un gran número de plantas desde árboles (álamo, alerce y eucalipto), cereales (trigo, maíz y arroz), leguminosas (garbanzo, soya y maní), vegetales (papa, tomate, auyama, brócoli y batata) y frutas (manzana y fresa). Sin embargo, los temas de propiedad intelectual han restringido la comercialización de muchos de estos productos (Llewellyn y Higgins, 2002).

Hoy en día, el maíz Bt y el algodón Bt son los únicos cultivos resistentes a insectos que se comercializan. La papa transgénica Bt, expresando Cry3Aa para el control de *Leptinotarsa decemlineata*, se comercializó entre 1996 y 2001, pero finalmente fue retirada del mercado debido a la falta de aceptación por parte de los consumidores y a la introducción de un nuevo insecticida en el cultivo, capaz de controlar coleópteros al igual que áfidos (Shelton *et al.*, 2002). El maíz Bt, expresando Cry1Ab, se desarrolló inicialmente para controlar *Ostrinia nubilalis*; sin embargo, mostró ser efectivo contra *Spodoptera littoralis* y *Helicoverpa zea* (Pilcher *et al.*, 1997; Gonzales-Nunez *et al.*, 2000; Dutton *et al.*, 2005). El maíz Bt que expresa la toxina Cry3Bb, que es específica contra coleópteros, va dirigida al control de *Diabrotica* spp., y en el 2003 recibió aprobación para ser usado comercialmente en Estados Unidos y en Canadá (Ward *et al.* 2005; AGBIOS, 2006).

Algodón Bt

El algodón fue uno de los primeros cultivos en desarrollarse como cultivo transgénico, empleando Bt, y hoy en día es uno de los más cultivados comercialmente en varios países, incluyendo Colombia. En el caso particular de Colombia existen varias actividades en curso con algodón Bollgard® y Bollgard II®, que incluyen ensayos de bioseguridad, plantaciones precomerciales y liberaciones comerciales (Moreno Villamil, 2007).

Las variedades de algodón Bt, están protegidas contra las plagas más importantes del algodón, lepidópteros de los géneros *Helicoverpa*, *Earias* y *Pectinophora*, que destruyen botones y flores o atacan a las cápsulas, antes de que éstas terminen la producción de fibra. Algunas de estas plagas son difíciles de combatir, ya que desde que emergen del huevo hasta que penetra en el órgano fructífero transcurren sólo horas, y una vez adentro los insecticidas actuales no son capaces de ser eficaces (Alvarado *et al.*, 1997 citado por Singenta). La pérdida de las primeras cápsulas o las galerías durante su desarrollo reducen sustancialmente la cantidad y calidad de la fibra. Los agricultores que adoptan variedades de algodón Bt han logrado un control de eficacia de las tres especies mencionadas arriba, con una reducción considerable de aplicaciones de insecticidas.

En el 2000, el área de cultivo de las variedades Bt de algodón era de 3,2 millones de hectáreas, en Estados Unidos, China, México, Australia, Argentina y Sur África¹

China es el país con mayor producción de algodón, paralelamente es un gran consumidor de agroquímicos. En un estudio sobre el efecto de la biotecnología en el uso de agroquímicos en el cultivo del algodón en China, se demostró una reducción en su empleo, de 55 a 16 kg de producto formulado por hectárea, y una disminución en el número de aplicaciones de 20 a 7 (Pray *et al.*, 2002). En India, con 9 millones de hectáreas en algodón, se acaba de aprobar la comercialización del algodón Bt, con la cual se esperan unos resultados similares a los de la China. En el 2004, las plantas de algodón Bt ya habían crecido a 7,4 millones de hectáreas en el mundo, debido a los beneficios económicos y medioambientales. Reportes de la China también indican una disminución en intoxicaciones por plaguicidas en estos agroecosistemas (Shelton, 2005 reportado por http://www.checkbiotech.org/blocks/dsp_document.cfm?doc_id=11175) y la disminución en el uso de insecticidas alrededor del 50% en Argentina (Qaim y De Janvry, 2005).

Los cultivos con variedades de algodón Bt han mostrado mayores producciones, menor uso de pesticidas y mayor retorno neto que los cultivos convencionales, en todos los países en desarrollo, donde se han hecho estos estudios (FAO, 2004; Raney, 2006). Aunque todavía es demasiado temprano para emitir conclusiones finales, los datos han indicado además del rápido nivel de adopción, que los agricultores se han beneficiado del algodón Bt (FAO, 2004).

Consideraciones con respecto al uso de cultivos transformados con Bt

En general, las consideraciones a tener en cuenta con respecto al uso de cultivos transformados con Bt son las mismas para cualquier otro cultivo con resistencia a insectos, y son:

1. Desarrollo de la resistencia de los insectos al cultivo modificado
2. Efectos indeseados del cultivo modificado en organismos que no son plagas
3. Flujo de genes y cruzabilidad entre el cultivo modificado genéticamente y las variedades cultivadas y silvestres
4. Seguridad alimentaria del cultivo, dependiendo del uso que se le dará a éste

Para cada uno de estos aspectos es necesario hacer un estudio de caso, considerando el cultivo, la zona y el uso que se le dará al producto.

Manejo de la resistencia de insectos cuando se usan cultivos transgénicos

Este tema ha sido bastante explorado, en lo que corresponde a cultivos con la toxina Bt. Uno de los riesgos al usar estas plantas es el desarrollo de resistencia por parte de los insectos, de la misma forma en que se desarrolla resistencia a los insecticidas.

Una exposición permanente de las plantas genéticamente transformadas, como en el caso de las plantas con Bt, puede acelerar la selección de insectos resistentes que tengan la mutación que les confiere resistencia a esta planta (Alvares –Buylla, 2005).

La resistencia a la proteína Bt se ha observado tanto en poblaciones de insectos provenientes de laboratorio como del campo. En el laboratorio, se han seleccionado insectos resistentes de varias especies que atacan cultivos con Bt, como es el caso de *Helicoverpa virescens* (Gould *et al.*, 1992), *Heliothis armigera* (Akhurst *et al.*, 2000) y *P. gossypiella* (Liu *et al.*, 2001). Estas poblaciones han servido como modelos para manejar el

¹ <http://www.syngentaseeds.es/biotecnologia/sostenibilidad.htm>

desarrollo de la resistencia en el campo. Se ha observado en el campo, resistencia en *Plodia interpunctella*, plaga de granos almacenados, y en *Plutella xylostella* en hortalizas (Tabashnik *et al.*, 2003).

Para prevenir el desarrollo de esta resistencia, se han propuesto varias estrategias de manejo de resistencia, éstas son discutidas por Benedict y Ring (2004) e incluyen:

1. Mezclas donde dos o más toxinas insecticidas se combinan en el mismo campo de siembra, mezclando variedades que producen diferentes toxinas, o plantas que tienen diferentes combinaciones de genes en la misma planta (piramidización de genes).
2. Rotación, en donde diferentes toxinas se usan en rotación, un año se siembra un cultivar con un tipo de toxina y al siguiente, otro con una toxina diferente.
3. Mosaico, en éste una variedad se siembra en un área determinada y variedades que expresan otra toxina se siembran en áreas adyacentes a la anterior.
4. Refugios. Se siembran las plantas no resistentes y se espera que sobre estas plantas se desarrollen insectos susceptibles, que a su debido tiempo, se apareen con individuos que tengan alelos de resistencia, que provengan de los cultivares resistentes. Se espera que la población de insectos se mantenga susceptible sobre el tiempo, a través de la continua dilución de los alelos de resistencia.
5. Estrategia de las altas dosis. Es el uso de cultivares que producen una dosis de toxina o proteína de resistencia, muchas veces más alta que la que se necesita para ocasionar la muerte de los insectos susceptibles en la población.

La estrategia utilizada hoy en día, es una estrategia combinada que incluye manipulación de los genes y promotores que permiten alta expresión de la proteína Bt en la planta y mezclas con plantas no modificadas genéticamente en el campo. Esto implica el uso de plantas que expresan altas dosis de la proteína Bt, combinado con refugios que están dados por plantas no transgénicas, las cuales se sitúan cerca a las plantaciones comerciales y en donde permanecen las poblaciones de insectos que contienen las características genéticas o los alelos susceptibles a Bt. Estas estrategias de alta dosis y refugio a jugado un papel muy importante para prevenir el desarrollo de la resistencia en estos cultivares. Esto asegura que cualquier insecto homocigoto resistente, que pueda ser seleccionado en el cultivo de Bt, podrá cruzarse con individuos completamente susceptibles a la toxina, que deben encontrarse cohabitando en los refugios. Esto implica que los refugios deben estar suficientemente próximos al cultivo transgénico, para asegurar un apareamiento aleatorio entre los individuos resistentes y susceptibles, de acuerdo a la distancia de dispersión de los insectos adultos de la población.

Un panel de científicos consultores de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), concluyó en 1998 que un cultivo Bt se considera de dosis alta, si se demuestra que la cantidad de toxina Bt que contiene es 25 veces la necesaria para eliminar el 99% de los insectos susceptibles (EPA, 1998).

La estrategia combinada está basada en tres premisas (Agrobio, 2007): 1) que los genes de resistencia deben ser parcial o completamente recesivos, es decir que los individuos heterocigotos deben tener una supervivencia muy baja en el cultivo transgénico, similar a los individuos susceptibles homocigotos. La tasa de supervivencia de los insectos heterocigotos debe ser menor al 5%, con respecto a los individuos completamente resistentes; 2) los genes que confieren la resistencia deben ser poco frecuentes en la población (Gould *et al.*, 1997); 3) el refugio con plantas resistentes debe producir suficientes individuos susceptibles homocigotos, que exceda el número de individuos resistentes también homocigotos, de forma que la siguiente generación esté conformada por individuos heterocigotos u homocigotos sensibles.

Otra de las estrategias para retardar el desarrollo de la resistencia es el desarrollo de plantas con múltiples genes de resistencia, ya que la mayoría de expertos (Gould 1998, Roush y Shelton, 1997) consideran que ésta es la medida más efectiva para la mitigación de resistencia, ya que al insecto plaga le será más difícil adaptarse al mismo tiempo, a diferentes mecanismos de control.

Hoy en día, los programas efectivos de manejo de la resistencia son una parte vital de las compañías productoras de estos cultivos y deben ser instituidos con base en conocimientos científicos, por lo tanto, es necesario conocer el modo de acción de las plantas, el organismo plaga y el ambiente en el que se introduce el cultivo. En el caso de Monsanto, la compañía productora de la semilla, ésta provee el soporte técnico para el desarrollo y la implementación de planes efectivos y prácticos de manejo del cultivo y de la resistencia, en todos los mercados donde el cultivo se introduce. Cada plan incluye los siguientes elementos:

- Susceptibilidad del organismo plaga y monitoreo de cambios en esta susceptibilidad.
- Se asegura la adecuada cantidad de insectos susceptibles para aparearse con insectos resistentes, a través de prácticas apropiadas de implementación de refugios y uso de hospederos alternativos, naturales o cultivados.
- Planes de mitigación.
- Educación a los agricultores en los conceptos de programas efectivos de manejo de la resistencia e implementación de estas prácticas. Estos planes de manejo varían de acuerdo con la distribución geográfica del cultivo, el tipo de insecto plaga y otros cultivos en la zona, y son revisados regularmente con información renovada de acuerdo con los resultados de investigación.
- En Estados Unidos, la ARS (Agricultural Research Service) y la USDA (United States Department of Agriculture), con el fin de retardar el desarrollo de la resistencia al algodón Bt han propuesto la adopción por parte de los agricultores de una de las siguientes tres estrategias: 1) sembrar un máximo de 80% de algodón Bt junto con un 20% de algodón sin Bt, con aplicaciones de insecticidas al algodón sin Bt, con excepción de insecticidas foliares, a base de Bt; 2) sembrar un máximo de 95% de algodón Bt junto con un 5% de algodón sin Bt, pero sin aspersión de insecticidas; 3) sembrar un máximo de 95% de algodón Bt con un 5% de algodón sin Bt, plantando el algodón no transgénico en los mismos campos del transgénico y con la aplicación de insecticida en el 95% del cultivo, siempre y cuando no se asperjen insecticidas foliares a base de Bt (USDA-ARS, 2007).

Efecto de plantas transgénicas resistentes a insectos, en organismos que no son plagas

Otro de los aspectos relacionados con las plantas transgénicas resistentes a insectos se refiere al efecto que éstas puedan tener en otros organismos diferentes al organismo plaga. Los riesgos ambientales implican efectos en los organismos que no son plagas (Scriber 2001), que se manifiestan en la toxicidad de las proteínas introducidas en el cultivo, una vez son ingeridas por insectos benéficos u otros animales, y también por los efectos ecológicos causados en la cadena alimentaria del ecosistema del cultivo (Bennett *et al.*, 1997).

La EPA, en Estados Unidos, es la entidad encargada de determinar los posibles riesgos ambientales y de salud que una planta modificada genéticamente pueda causar, y bajo ningún motivo deben existir dudas con respecto a su seguridad. Antes de la aceptación y comercialización del cultivo transgénico, éste debe ser registrado ante la EPA. La EPA tiene una serie de requerimientos relacionados con el grupo de datos que se requieren para evaluar la seguridad de los organismos modificados genéticamente (Marvier, 2002). La seguridad con respecto al daño ambiental de cada cultivo se determina individualmente, ya que la cantidad y el tipo de proteína transgénica expresada varía.

En el caso de Colombia, tres agencias gubernamentales se encargan de la evaluación de riesgos de organismos vivos modificados genéticamente (OVM), junto con sus correspondientes comités consejeros de bioseguridad (CTN-Bios). El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y su CTN-Bios, se encargan de la evaluación de OVM con aplicación en la agricultura, la ganadería, la pesca, las plantaciones forestales y la agroindustria (CTN_BioAgro). El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima) y el CTN-Bio, se encargan de la evaluación de OVM con aplicaciones en humanos (CTN-BioSalud), y El Ministerio

del Medio Ambiente y Desarrollo Rural y el CTN-BioAmbiente se encargan de la evaluación de OVM con aplicación directa en el ambiente (Tinjacá Espinel, 2007). Los CTN-Bios tienen como función revisar y evaluar los documentos concernientes a la evaluación de riesgos, presentada por los solicitantes o el ICA siguiendo la ley 720 del 2002, que contiene los requerimientos para evitar, prevenir, mitigar corregir o compensar los posibles riesgos.

Como parte de esa serie de regulaciones antes de la comercialización de un cultivo, tanto en Estados Unidos como en Colombia, es necesario determinar los efectos potenciales en los organismos que no son plaga. Esto conlleva a evaluaciones en el laboratorio, que se realizan con varios insectos que no son plagas, exponiéndolos a las diferentes concentraciones de la proteína pura y determinando cuál es la concentración máxima que podrán encontrar en el campo. Las especies de insectos a evaluar se escogen con base en la región donde se sembrará el cultivo modificado, e incluyen predadores, parasitoides y polinizadores que están asociados con el cultivo, además de organismos del suelo y acuáticos. Estas especies corresponden a diferentes taxas y se evalúan diferentes rutas de exposición, al igual que el efecto del consumo directo del tejido que expresa la toxina, consumo de polen o ingestión de materiales de la planta que se incorpora en el suelo. Además, se realizan experimentos con aves, invertebrados acuáticos e invertebrados del suelo, diferentes a insectos (Head y Dively, 2004).

La gran mayoría de los experimentos se han hecho evaluando cultivos Bt con la proteína Cry. La variante Cry1 presente en maíz y algodón es activa contra lepidópteros y no se ha observado algún impacto adverso en especies que no son lepidópteras (Head y Dively, 2004). Debido a que la toxina se expresa únicamente dentro del tejido de las plantas, en insectos que no son fitófagos no se ha observado ningún efecto. Tampoco se han evidenciado efectos negativos en la estructura ecológica o la abundancia de especies, como es el caso de poblaciones de coleópteros en cultivos de maíz Bt (Lozzia, 1999). Las únicas especies directamente afectadas con disminución en su abundancia son las especies plaga.

El efecto en enemigos naturales y predadores generalistas también ha sido estudiado, debido a su papel en el control biológico (Symondson *et al.*, 2002). Hasta el momento no se han observado efectos negativos en estas poblaciones (Betz *et al.*, 2000 y EPA, 2001). Sin embargo, sí se han reportado efectos adversos indirectos en poblaciones de parasitoides específicos, los cuales se alimentan exclusivamente de la plaga. Estos efectos consisten en la reducción de sus poblaciones (Bernal *et al.*, 2002; Bourguet *et al.*, 2002). Este mismo efecto se observaría frente a cualquier medida que se tome para controlar el insecto plaga, es decir el uso de medidas de control cultural o aplicación de insecticidas, debido a que éstas reducen la población plaga, lo que repercute en la población de parasitoides.

Por último, Sisterson *et al.* (2007) realizaron un estudio para ver el efecto del algodón Bt en la reducción del uso de insecticidas y la abundancia de predadores generalistas, con la implicación de que si en los cultivos con Bt se observa una reducción en el uso de insecticidas, este hecho debía favorecer el establecimiento de algunos artrópodos que no son plagas. Al analizar 21 plantaciones comerciales encontraron que en los cultivos no modificados se realizaban dos veces más aplicaciones de insecticidas comparados con los cultivos Bt; así mismo, la abundancia de dos depredadores *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) y *Orius tristicolor* (Heteroptera: Anthracoridae), se asociaban negativamente con el número de aplicaciones de insecticidas. Ahora bien, sin el efecto de los insecticidas no existirían diferencias con respecto a la abundancia de los predadores en cultivos Bt, al compararlos con los no modificados.

Con respecto a los efectos en otros insectos que no están directamente relacionados con el cultivo, hay mucha discusión debido al artículo de Losey *et al.* (1999), en el que demuestran la toxicidad del polen de maíz Bt, expresando la toxina Cry en la mariposa monarca (*Danaus plexippus*), en Estados Unidos. Aunque el artículo no reportaba un hallazgo científico nuevo, causó bastante polémica y permitió a varios autores realizar trabajos concernientes a dilucidar el efecto real de transgénicos en insectos y organismos que no son plagas. Por ejemplo, se encontró que en la mayoría de los cultivos comerciales transgénicos que expresan el Bt, existe una muy baja expresión de la toxina en el polen, los estudios tanto de laboratorio como en el campo mostraron que no existían efectos tóxicos en el polen que pudieran encontrarse en el campo. También encontraron que no existe sobreposición entre los períodos de la emisión de polen y los períodos de actividad de las larvas de la mariposa, y hay un limitado sobrelapamiento entre la distribución de los

cultivos de maíz Bt y el de asclepias (*Asclepia syriaca*), único alimento de las mariposas (Sears *et al.*, 2001; Zangerl *et al.*, 2001; Hellmich *et al.*, 2001; Pleasants *et al.*, 2001; Stanley-Horn *et al.*, 2001, Oberhauser *et al.*, 2001). Todos estos estudios permitieron concluir que no existían efectos negativos de los cultivos Bt en la población de mariposas monarca, ya que el polen no es tóxico a las mariposas, en las concentraciones que las larvas pueden encontrarlo bajo condiciones reales de campo (Bravo *et al.*, 2005).

Seguridad alimentaria de cultivos Bt

Con respecto a la seguridad alimentaria, existe un registro histórico del uso seguro de la proteína Cry en productos microbianos elaborados con base en Bt (EPA, 1998; IPCS, 1999). La EPA y la Organización Mundial de la Salud (WHO) han concluido que la exposición en la dieta a la proteína Cry en cultivos de especies alimenticias no presentan inconvenientes. Aunque el uso de *Bacillus thuringiensis* puede resultar en una dieta que contenga esporas en un producto agrícola primario, se espera que el consumo de este producto no cause peligro a la población, ya que con Bt nunca se han presentado reportes de efectos adversos en la salud humana por consumo de alimentos o bebidas que contienen la toxina Bt (IPCS, 1999).

Además de esta consideración, las compañías encargadas de comercializar estos cultivos han hecho los análisis relacionados con la seguridad alimentaria de estas plantas, y es así como, en el caso del Algodón Bt, se han desarrollado estudios de digestibilidad de las proteínas Cry2Ab2 y GUS en fluidos intestinales y gástricos, se ha evaluado la toxicidad aguda de las proteínas Cry2Ab2 y GUS en ratones, se ha determinado la similitud de la secuencia proteica de Cry2Ab2 y GUS y se ha comparado con toxinas proteicas conocidas, se ha evaluado el potencial alergénico de estas proteínas, se ha evaluado el efecto de la exposición en humanos a estas proteínas y se ha hecho el análisis de la composición de estas plantas y el análisis nutricional, así como los análisis de toxicidad de las semillas de algodón. En ninguno de estos estudios se ha observado un efecto negativo de la toxina en la inocuidad del cultivo².

Flujo de genes y cruzabilidad entre el cultivo modificado genéticamente y las variedades cultivadas y silvestres

El flujo horizontal de genes se refiere a la transferencia de genes, habitualmente a través del polen, de especies cultivadas a sus parientes silvestres y viceversa. Esto puede suceder ya sea con plantas convencionales o con plantas modificadas genéticamente³.

El problema de la cruzabilidad entre el material transgénico y las variedades cultivadas o silvestres, radica en que la transferencia de los genes de resistencia de la planta transgénica pueda concederle una ventaja a la planta silvestre, haciendo que ésta pueda convertirse en una maleza, o en su defecto pueda causar el deterioro de la variabilidad genética de las especies silvestres.

Una de las principales controversias sobre el tema, está relacionada con el maíz transgénico Bt, en México. El maíz se originó en el sur de México, cuando los primeros agricultores seleccionaron variantes de la planta silvestre *Teosintle*, que generaban más semillas y las producían en una forma más fácil de cosechar. Los agricultores continuaron seleccionando las primeras plantas de maíz para obtener adaptación a distintas condiciones ambientales, así como una mejor apariencia y más usos como alimento. Este proceso fue ayudado por la tendencia natural de las plantas de maíz a efectuar la polinización cruzada con otras plantas de maíz, con lo cual se entremezclan los genes y se produce una mayor variación, a partir de la cual se pueden seleccionar las plantas más convenientes. La diversidad genética natural del maíz en su zona de origen, combinada con la diversidad geográfica y étnica del sur de México, ha dado como resultado que los agricultores hayan desarrollado muchas "razas criollas", que son variedades autóctonas de maíz adaptadas

² El ADN transgénico en las razas criollas mexicanas de maíz http://cls.casa.colostate.edu/CultivosTransgenicos/sp_maizepopupA.html.

³ Monsanto, Safety Assessment of Bollgard II® Cotton Event 15985.

a zonas específicas. En consecuencia, se considera que el sur de México es un centro mundial de diversidad genética del maíz, un recurso en potencia para los fitomejoradores de maíz de todo el mundo⁴.

A finales del año 2000, investigadores de la Unión Zapoteco-Chinanteca- (UZACHI) y de Berkeley, iniciaron un programa para detectar marcadores moleculares de transgenes en maíz nativo de la Sierra de Juárez, Oaxaca. Se encontró evidencia de la presencia de material transgénico en las variedades criollas y se ha discutido mucho acerca de los posibles efectos adversos de esta contaminación, que incluyen: la pérdida y el deterioro de los recursos genéticos, la homogeneización de cultivos, la transferencia de genes a parientes silvestres y la creación de nuevas arvenses (Ortiz, 2002). Para cada cultivo en cada zona o país, se requiere un estudio de caso que permita determinar la pertinencia o no de plantar la variedad transgénica.

Genes de inhibidores de amilasas para el control de insectos

Los inhibidores de α -amilasas son proteínas de defensa de las plantas que se acumulan en la fase media del desarrollo de la semilla, en el momento en que las proteínas de reserva se almacenan en los cuerpos proteicos o vacuolas proteicas. Las leguminosas almacenan estas proteínas en vacuolas especializadas, formadas durante la maduración de la semilla (Chrispeels, 1997). Dichas estructuras se forman durante la maduración de la semilla. Estas proteínas inhiben la actividad de gran variedad de α -amilasas presentes en los mamíferos e insectos, pero no la de las que se encuentran en las plantas, por lo que han sido consideradas como proteínas de defensa más que como proteínas del metabolismo de las plantas (Chrispeels, 1997).

Los inhibidores de α -amilasas se han encontrado en microorganismos, plantas y animales. Se ha determinado para un gran número de estos inhibidores, su secuencia de aminoácidos, su estructura, su mecanismo de acción y los genes que las codifican (Billeter *et al.*, 1989; Vertesy y Tripier, 1985).

En las plantas, los inhibidores de α -amilasas son abundantes en cereales, leguminosas y otras semillas (Richardson, 1991). Generalmente, estos inhibidores tienen bajo peso molecular y algunos inhiben la actividad de α -amilasas tanto en insectos como en mamíferos, mientras que otros son más específicos (Gatehouse, 1999). En los cereales, estos inhibidores están presentes principalmente en trigo (*Triticum aestivum*) (Franco *et al.*, 2000), cebada (*Hordeum vulgareum*) (Abe *et al.*, 1993), sorgo (*Sorghum bicolor*) (Bloch y Richardson, 1991), centeno (*Secale cereale*) (Iulek *et al.*, 2000) y arroz (*Oryza sativa*) (Yamagata *et al.*, 1998), pero también están presentes en leguminosas como guandúl (*Cajanus cajan*) (Giri y Cachole, 1998), caupí (*Vigna unguiculata*) (Melo *et al.*, 1999) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Grossi *et al.*, 1997).

El efecto de estos inhibidores sobre las α -amilasas de diferentes orígenes fue bien ilustrado por el trabajo de Ishimoto y Kitamura, en 1989, citados por Chrispeels (1997), quienes midieron la inhibición de éstas en el intestino de larvas del gorgojo de frijol y de caupí, y encontraron menor inhibición de las amilasas en el gorgojo de frijol que en el gorgojo de caupí, las cuales fueron altamente inhibidas. La formación del complejo inhibidor de α -amilasa con la amilasa tiene un pH óptimo de 5,5. Es por esta razón que la α -amilasa inhibe en el medio ácido del intestino de coleópteros, pero no en el alcalino de lepidópteros (Chrispeels, 1997).

La primera secuencia de cDNA clonada para un inhibidor de amilasas fue identificada en *Phaseolus vulgaris* y se le denominó "lectina del frijol", por su gran similitud con la fito-hemaglutinina, típica de esta especie (Hoffman *et al.*, 1982). Actualmente esta proteína se denomina α -AI (Moreno y Chrispeels, 1989) y ha sido encontrada en accesiones silvestres de frijol, como en especies emparentadas a éste como *P. acutifolius*, *P. coccineus* y *P. polyanthus* (Pueyo *et al.*, 1993). La incubación de un extracto de inhibidores amilásicos, obtenido de semillas de frijol, con α -amilasas extraídas de páncreas porcino y tractos digestivos de las larvas de *Zabrotes subfasciatus* y *Callosobruchus chinensis*, dos especies de gorgojo que atacan a *P. vulgaris* y *Vigna sinensis*, respectivamente, mostraron que la inhibición de la actividad amilásica es diferencial. La α -amilasa menos inhibida fue la de *Z. subfasciatus*, que es la peor plaga del frijol. Mientras que la α -amilasa de *Callosobruchus chinensis* fue inhibida en un 100% por el inhibidor α -AI del frijol, y este gorgojo no ataca las semillas de frijol (Ishimoto y Kitamura, 1989). Estos experimentos llevaron a la conclusión de que el α -AI del frijol era el principal factor de resistencia de esta leguminosa al gorgojo de *Vigna sinensis*.

⁴ <http://www.greenfacts.org/es/omg/2-cultivos-modificados-geneticamente/5-flujo-genes.htm>.

La determinación de la especificidad de la inhibición es la etapa más importante en el descubrimiento de un inhibidor que pueda ser útil para la obtención de plantas transgénicas resistentes a insectos. En algunos casos, los inhibidores de amilasas actúan solamente contra α -amilasas de mamíferos o, por el contrario, solo contra α -amilasas de insectos. Este último caso, es el preferido para brindar una defensa altamente específica contra la plaga. De acuerdo con la clasificación propuesta por Richardson (1991), los inhibidores de α -amilasas se pueden agrupar por estructura terciaria, en seis clases: tipo lectina, tipo knotina, tipo cereal, tipo Kunitz, tipo purotionina y tipo taumatina (Tabla 15.1).

Tabla 15.1. Clasificación de los inhibidores de α -amilasas de acuerdo a su estructura y su actividad contra α -amilasas de mamíferos e insectos.

Clase	Origen	Tamaño (aminoácidos)	Actividad inhibitoria		
			Contra amilasas de insectos	Contra amilasas de mamíferos	Contra proteasas
Tipo Kunitz	Cebada, trigo, arroz	176-180	+	+	+
Tipo cereal	Cebada, trigo, mijo	124-160	+	+	+
Tipo lectina	Leguminosas	240-250	+	+	-
Tipo taumatina	Maíz	173-235	+	-	+
Tipo Knottin	Amaranto	32	+	-	-
Tipo γ - purotionina	Sorgo	47-48	+	-	-
Procariotico	Actinomicetes	75-120	+	+	-

Estas consideraciones junto con los datos bioquímicos, permiten determinar que algunos de estos inhibidores son candidatos más promisorios que otros. Por ejemplo, el inhibidor bifuncional α -amilasa/subtilisina aislado de los cereales, tiene una afinidad bioquímica por las enzimas vegetales, derivado de su papel en la regulación del metabolismo del almidón, y por lo tanto, no sería un candidato muy opcionado. Los inhibidores de α -amilasas, selectivos para las enzimas de insectos pero inactivos para las de mamíferos, provienen de cereales (Franco *et al.*, 2000), como es el caso del inhibidor de *Amaranthus hypocondriacus* (Chagolla-López *et al.* 1994) y el de maíz zeamatin (Schimoler-O'Rourke *et al.*, 2001).

Es también importante tener cuenta que las condiciones *in vivo* pueden modular la especificidad de la actividad amilásica. Por ejemplo, el pH ácido necesario para la inhibición de las amilasas es óptimo en los coleópteros, cuyos tractos digestivos son ácidos, que en los lepidópteros, donde el contenido del tracto intestinal es básico (La-Jolo *et al.*, 1991). La degradación de los inhibidores de α -amilasas por las proteinasas digestivas del insecto podrían explicar la baja eficiencia de algunos inhibidores contra insectos plagas (Ishimoto y Chrispeels, 1996).

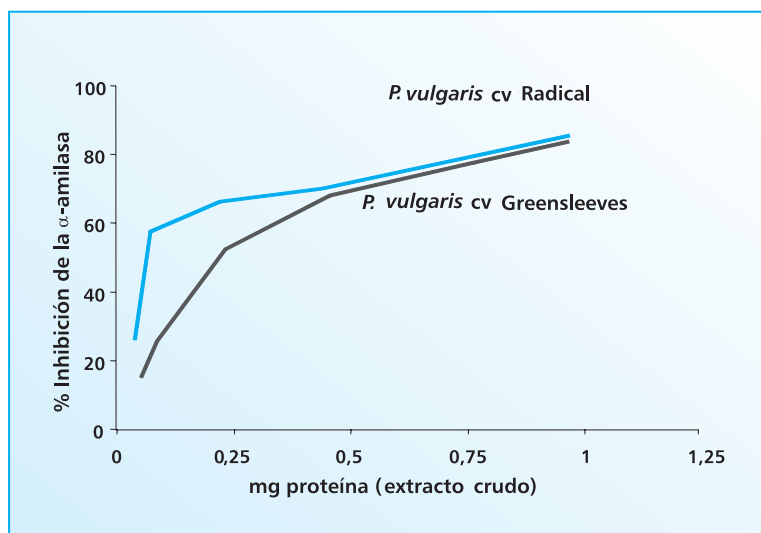
Plantas transgénicas expresando genes de inhibidores de amilasas

La primera demostración práctica que involucra a los inhibidores de amilasas utilizó la proteína α -AI1, que inhibe específicamente las amilasas del gorgojo de la arveja, el gorgojo de la judía y el gorgojo del haba, que son plagas en Europa. En plantas de arveja modificadas genéticamente, se logró una resistencia completa contra estos gorgojos, para niveles de expresión del inhibidor de amilasas entre 0,8 y 1,0%, con una mortalidad larval completa de los primeros o segundos ínstares (Shade *et al.*, 1994; Schroeder *et al.*, 1995). Estas observaciones también se realizaron en el campo (Morton *et al.*, 2000). De manera similar, las plantas de haba que expresaban el inhibidor de amilasas α -AI1, fueron totalmente resistentes al gorgojo del haba (Ishimoto *et al.*, 1996). El inhibidor de amilasa α -AI2, es menos eficaz en inhibir la α -amilasa del gorgojo de la arveja, por lo que este inhibidor fue parcialmente eficaz en proteger en el campo, a plantas transgénicas de arveja contra el gorgojo de la arveja (Morton *et al.*, 2000). Sin embargo, las pruebas de alimentación realizadas con dietas artificiales que contenían los extractos proteicos de esta arveja transgénica expresando el inhibidor α -AI2, demostraron una eficacia completa contra el gorgojo

Z. subfasciatus (Grossi de Sá, O. L. Franco, F. R. Melo y C. P. Magalhaes, resultados inéditos). En una etapa temprana del desarrollo, los inhibidores de amilasas del trigo también demostraron funcionar activamente contra enzimas hidrolíticas del tracto digestivo de las larvas de varias especies de gorgojos de semilla y prometen ser moléculas candidatas para el control de plagas (Kashlan y Richardson, 1981; Okuda *et al.*, 1997; García-Maroto *et al.*, 1991).

Los inhibidores de amilasas contra la broca del café

Experimentos realizados en Cenicafé, han demostrado que los inhibidores de las α -amilasas provenientes de dos variedades de frijol (*P. vulgaris*, variedades greensleaves y radical), son proteínas que bloquean la actividad de las amilasas digestivas de *Hypothenemus hampei*, y son los genes de estas proteínas candidatos promisorios para ser introducidos al café por transformación genética, para conferir a las plantas resistencia a la broca (Figura 15.1) (Valencia *et al.*, 2000).



■ **Figura 15.1.** Inhibición *in vitro* de extractos proteicos crudos de dos variedades de *Phaseolus vulgaris*, con inhibidores de α -amilasa, sobre la actividad enzimática de la α -amilasa de la broca del café (Tomado de Valencia *et al.*, 2000)

Bioensayos realizados en el laboratorio con dietas artificiales que contenían alrededor de 5% del inhibidor de amilasa del frijol, produjeron una mortalidad de 60% en larvas de la broca (Cenicafé, 2003). El gen del inhibidor de α -amilasa se aisló a partir del genoma del frijol (*P. vulgaris*, var. radical) y fue transferido por transgénesis a plantas de *Nicotiana benthamiana*, donde se expresó bajo el control de dos promotores de expresión genética. El gen se introdujo en un vector de transformación, bajo el control de expresión de un promotor específico del endospermo del café, y está disponible para su uso en experimentos de transformación genética del café (Cenicafé, 2004).

Recientemente, se aisló el gen del inhibidor de amilasas de *Phaseolus coccineus*, y se introdujo en plantas de tabaco (*N. tabacum* var. Xanthi). El inhibidor de amilasas aislado de las plantas transgénicas de tabaco produjo una inhibición de 65% de las amilasas de la broca del café (Pereira *et al.*, 2006).

Consideraciones con respecto al uso de inhibidores de α amilasas

Una de los cuestionamientos con respecto al uso de α -amilasas, es la habilidad que muestran algunos insectos de degradarlos. Otro aspecto, es el hecho de que estas proteínas pueden también inhibir α -amilasas del tracto digestivo de mamíferos e interferir con los procesos nutricionales (Pusztai *et al.*, 1991). La presencia de estas proteínas es la razón principal del porque las semillas de leguminosas son cocinadas o tostadas antes de consumirlas. Una vez denaturadas las proteínas, éstas pierden su capacidad antinutricional (Layer *et al.*, 1985). Sin embargo, para evitar problemas de percepción pública es necesario encontrar α amilasas que inhiban los insectos blanco, sin tener efecto en amilasas de mamíferos (Chrispeels, 1997).

Genes de lectinas para el control de insectos

Las lectinas son proteínas de origen no inmune, que se unen a carbohidratos y que tienen la capacidad de aglutinar las células y unirse a los glicanos de las glicoproteínas, glicolípidos o polisacáridos (Goldstein *et al.*, 1980). Las lectinas han sido aisladas de varios tejidos de plantas, y son las semillas las fuentes más ricas de estas lectinas. La familia de las leguminosas son las plantas que presentan los más altos contenidos de lectinas. Las lectinas están involucradas en los mecanismos de defensa de las plantas, en el reconocimiento celular y en las funciones enzimáticas catabólicas en las plantas (Czapla, 1997).

El modo de acción de las lectinas y su efecto tóxico sobre los insectos no está completamente dilucidado (Czapla, 1997). Este se relaciona con la unión específica de las lectinas a glicoconjugados localizados en el intestino medio de los insectos; existen diferentes interacciones que pueden estar ocurriendo: 1) Unión de la lectina a la matriz de quitina de la membrana peritrófica; 2) Unión a los glicoconjugados en la membrana peritrófica; 3) Unión a los glicoconjugados expuestos en la superficie de las células epiteliales del intestino medio; 4) Unión a los glicosilados de las enzimas digestivas; y 5) Unión a las proteínas glicosiladas presentes en las plantas huésped. Otros trabajos han permitido determinar que el efecto se puede deber a la acción combinada de varios de estos mecanismos; en el caso de larvas de la mosca *Lucilia cuprina* (Wied.) (Diptera: Calliphoridae) que crecían en presencia de lectina del germén del trigo, se observaron efectos en el crecimiento y alta mortalidad de la población, causada por unión de la lectina a la membrana peritrófica, ocasionando una reducción de la permeabilidad de ésta. Además, se redujo la ingestión de alimento y las lectinas también se unieron a la membrana peritrófica del intestino medio de las larvas y de las células epiteliales, aunque no se observó el daño de éstas (Eisemann *et al.*, 1994).

Diferentes lectinas han sido evaluadas en dietas artificiales contra insectos y han mostrado actividad contra diferentes insectos considerados plagas agrícolas. Algunos de los genes que codifican estas lectinas se han clonado. En las primeras plantas de tabaco transformadas con una lectina de arveja, se observó una reducción en el peso y el desarrollo del gusano del tabaco, *Heliothis virescens* (Hepher *et al.*, 1989). Plantas de tabaco transformadas con una lectina de *Galanthus nivalis* (GNA) causaron una disminución de la sobrevivencia del pulgón verde, *Myzus persicae* (Hilder. *et al.*, 1995). Cuando la misma lectina se transfirió a papa, las plantas causaron un retardo en el desarrollo de larvas de la polilla del tomate (*Lacanobia oleacea*) (Fitches *et al.*, 1997; Gatehouse *et al.*, 1997). Las mismas plantas de papa se evaluaron contra *M. persicae*, y en este caso afectaron la fecundidad y la sobrevivencia de este insecto (Gatehouse *et al.*, 1996). De igual forma, cuando se transformaron plantas de arroz con esta GNA, se observaron efectos sobre el saltamontes del arroz (*Nilaparvata lugens*; BPH), consistentes en la disminución de la supervivencia, la fecundidad y el retardo en el desarrollo, y es el GNA el primer gen en mostrar un efecto contra un insecto chupador (Rao *et al.*, 1998). En 1998 y 1999, plantas de caña de azúcar transformadas con la misma lectina GNA, se evaluaron por su resistencia contra *Eoreuma loftini* y *Diatrea saccharalis*, estas plantas mostraron menores porcentajes de entrenudos afectados, comparados con plantas no transformadas (Legaspi *et al.*, 2004).

Lectinas provenientes de trigo (*Triticum sativum*), conocidas como aglutininas del germen de trigo o WGA, por sus siglas en inglés, también se han utilizado para transformar plantas. Estas lectinas fueron introducidas primero en callos de maíz dulce negro mexicano (BMS). Estas líneas de callos al ser fuente de alimento, causaron una reducción en el crecimiento de las larvas del taladrador del maíz, *Ostrinia nubilalis* (Cavalieri *et al.*, 1995). En las plantas transgénicas regeneradas a partir de estos callos, se observó menor daño en las hojas causado por este insecto y reducción en el número de larvas presentes en las plantas (Czapla y Lang, 1990).

Las mayores inquietudes con respecto al uso de lectinas se relacionan con sus propiedades antinutricionales, cuando se ingieren como fuente alimenticia de animales superiores, incluyendo humanos y sus posibles impactos en insectos que no son plagas (Belzunces *et al.*, 1994).

Las lectinas provenientes de frijol (PHA) y soya tienen efectos tóxicos nutricionales para la gran mayoría de animales, así como las lectinas WGA, han mostrado un efecto detrimental en ratas cuando son ingeridas (Pusztai *et al.*, 1993; Santiago *et al.*, 1993). Para que los factores de resistencia sean efectivos en las plantas, éstos deben expresarse en relativamente altas cantidades y los efectos antinutritivos de las lectinas pueden

llegar a ser asunto de seguridad alimentaria, ya sea que se expresen en semillas o en otras partes de la planta.

Genes de inhibidores de proteinasas para el control de insectos

Las proteinasas son enzimas proteolíticas que están típicamente clasificadas en cuatro grupos: serine proteinasas, cistein proteinasas, aspartil proteinasas y metalo proteinasas (Reeck *et al.*, 1997). Varios tipos de proteinasas digestivas de los insectos, encargadas de los procesos de nutrición, hacen parte de este grupo de proteínas y se encuentran presentes en el intestino medio de éstos (Terra y Ferreira, 1994). En el intestino medio con pH alcalino, de los insectos lepidópteros, se han encontrado proteinasas tipo tripsina, chimotripsinas y elastasas, que hacen parte de las serin proteinasas (Rymerson y Bodnaryk, 1995). Los coleópteros, con pH en el intestino desde ácido hasta muy alcalino, presentan proteinasas tipo cisteínas (Murdock *et al.*, 1987). Los inhibidores de proteinasas (IPs) son proteínas que reducen la actividad proteolítica de estas enzimas digestivas.

Los IPs interactúan con su proteasa blanco uniéndose al sitio activo catalítico de la proteasa, lo que resulta en un complejo inhibidor de proteasa estable e incapaz de mostrar actividad enzimática (Norton, 1991). Además, éstas son proteínas naturales presentes en las plantas, que tienen el potencial de protegerlas contra los insectos herbívoros. Los IPs reducen la actividad enzimática proteolítica en condiciones *in vitro*, de un gran número de especies de insectos. Cuando estos inhibidores de proteinasas son incorporados en dietas artificiales de algunas especies de insectos, luego de la ingestión de estos inhibidores, su crecimiento se ve reducido significativamente (Broadway, 1986).

Los primeros trabajos con inhibidores de proteinasas para producir plantas transgénicas resistentes a insectos fueron desarrollados por Hilder *et al.* (1987), quienes transformaron tabaco con un gen que codifica un inhibidor de tripsina de la familia de proteínas Bowman-Birk de caupí, la expresión de esta proteína causó efectos negativos en *H. virescens*. Las mismas plantas causaron incrementos de mortalidad en el gusano del maíz, *Heliothis zea*. Johnson *et al.* (1989) transformaron tabaco con un gen de un inhibidor de proteinasa I/II, presente tanto en papa como en tomate, y observaron una reducción en la tasa de crecimiento de *Manduca sexta*.

Transformaciones de tomate con un gen de prosistemina antisense, el cual favorece la expresión de los inhibidores de proteinasas, mostraron que las IPs están involucradas en los mecanismos de defensa contra insectos. Las plantas transgénicas que mostraron expresión del gen, ocasionaron efectos negativos sobre el crecimiento de *M. sexta*, mientras que en plantas transformadas que no expresaban las proteínas permitieron el crecimiento normal de los insectos (Orozco-Cárdenas *et al.*, 1993). También se reporta la transformación de tabaco con un inhibidor serine proteinasa aislado de repollo, estas plantas transformadas mostraron efectos sobre el crecimiento y desarrollo de *Heliothis virescens* (Pulliam *et al.*, 2001). Además, plantas de tabaco transformadas con un inhibidor de papa tipo II, que inhibe la chimotripsina afectaron la tasa de crecimiento de larvas de *Chrysodeixis eriosma*, sin embargo, estas mismas plantas no tuvieron efectos sobre *Spodoptera litura* ni sobre *Thysanoplusia orichalcea* (McManus *et al.*, 1994). Este trabajo muestra la importancia del conocimiento del sitio de acción de los factores de resistencia sobre los insectos plaga. Los factores de resistencia actuarán de diferentes formas dependiendo de las características fisiológicas de los insectos.

A finales de los noventa, plantas diferentes a tabaco fueron transformadas con IPs, es así como se registra la transformación de alfalfa (Thomas *et al.*, 1994), alamos (Klopfensteins *et al.*, 1997), arroz (Duan *et al.*, 1996) y *Arabidopsis* (Santos *et al.*, 1997). Todas estas plantas mostraron diferentes grados de resistencia contra insectos. Además, un IP aislado del insecto *M. sexta* se empleó para transformar tabaco (Thomas *et al.*, 1995 a) y algodón (Thomas *et al.*, 1995 b) y reducir la fecundidad de la mosca blanca, *Bemisia tabaci*. Reeck *et al.* (1997) resumieron la investigación en plantas transgénicas expresando IPs, y concluyeron que un IP individual no puede ser utilizado universalmente como un inhibidor de crecimiento de insectos, o factor de resistencia. La estrategia debe ser seleccionar con base en pruebas *in vitro* y bioensayos, para cada insecto que sea plaga, el tipo de IP que puede inhibir sus funciones digestivas.

Finalmente, la habilidad en algunas especies de insectos para adaptarse fisiológicamente a la presencia de inhibidores de proteinasas incorporados en sus dietas (Broadway, 1995), indica que los IPs pueden solamente imponer un factor de estrés en los insectos. En este caso, los IP deben ser utilizados en combinación con los productos de otros transgenes que tengan un diferente mecanismo de acción sobre los insectos, para de esta forma obtener un control exitoso sobre los insectos. A conclusiones similares llegaron Fan y Wu (2005) en un artículo de revisión del tema, en el que indican que ya que el intestino medio de los insectos tiene cerca de 1.020 proteasas diferentes (Bown *et al.*, 1997), las cuales son reguladas diferencialmente, y debido a que no todas ellas pueden ser inhibidas por IPs de las plantas (Broadway, 1997), para alcanzar una estrategia efectiva del control de plagas es importante lograr la expresión orquestada de diferentes inhibidores en una forma organizada.

Genes de quitinasas para el control de insectos

La quitina es un polímero lineal insoluble formado por unidades de *N*-acetil- β -D glucosamida, es un componente estructural presente en la cutícula de artrópodos y en el caparazón de moluscos, en la pared celular de hongos, algunas algas y en algunos estados de nematodos (Brydon *et al.*, 1989; Elango *et al.*, 1982). La quitina es el principal componente de la cutícula de los insectos, la cual forma parte del exoesqueleto del insecto y al menos, parcialmente, cubre sus órganos internos, incluyendo el tracto digestivo, el cual está dividido en tres partes: intestino anterior, medio y posterior. En el intestino anterior y el intestino posterior, la quitina se encuentra en una capa cuticular continua, mientras que en el intestino medio, está presente en las membranas peritróficas; estas membranas se componen de una malla de microfibrillas de quitina donde está embebida una matriz de glicoproteínas, proteoglicanos y proteínas (Peters, 1992). A diferencia de la cutícula que recubre el intestino anterior y posterior, la membrana peritrófica se secreta continuamente, a partir de todas las células epiteliales del intestino medio (membrana tipo 1) o a partir de un anillo especializado de células localizado en la parte anterior del intestino medio (membrana tipo 2). Las funciones de la membrana peritrófica son: proteger a las células epiteliales de la abrasión causada por partículas del alimento, prevenir la entrada de microorganismos patógenos que se hayan ingerido, y ultrafiltrar ciertos aleloquímicos (Abedi y Brown, 1961; Brandt *et al.*, 1978; Sudha y Muthu, 1988; Sieber *et al.*, 1991; Barbehenn y Martin, 1992). Además, se cree que la membrana peritrófica forma compartimientos en el intestino medio para que las enzimas digestivas sean más eficientes en la digestión (Terra y Ferreira, 1981; Eguchi *et al.*, 1982; Miller y Lehane, 1990; Zhu *et al.*, 1991; Peters, 1992).

Las enzimas quitinolíticas o quitinasas catalizan la hidrólisis de la quitina en el enlace C1-C4 entre dos unidades de *N*-acetilglucosamina (Bielka *et al.*, 1984; Sahai y Manocha, 1993). Hay tres tipos de enzimas quitinolíticas: (I) *N*-acetil- β -d-glucosaminidasa (EC 3.2.1.30), la cual cliva unidades monoméricas de la región terminal de la quitina; (II) 1,4- β -d-quitobiosidasa (EC 3.2.1.14), también conocida como exoquitinasa (Sahai y Manocha, 1993), la cual cliva unidades diméricas de la región terminal de la quitina; y (III) endoquitinasas (EC 3.2.1.14) (Bielka *et al.*, 1984), las cuales clivan al azar la molécula de quitina internamente (Sahai y Manocha, 1993). Los tres tipos de enzimas quitinolíticas son sintetizados por los organismos que contienen quitina, tales como insectos, crustáceos, levaduras y hongos (Chen, 1987), así como por organismos que no contienen quitina, tales como bacterias, plantas superiores, peces y humanos (Benmouna *et al.*, 1986; Grisley y Boyle 1990; Collinge *et al.* 1993; Hollak *et al.* 1994).

Las enzimas quitinolíticas son esenciales en artrópodos (Chen, 1987), hongos (Flach *et al.*, 1992; Gooday, 1986; Sahai y Manocha, 1993) y nematodos (Gooday *et al.*, 1988), ya que éstas regulan la presencia de la quitina durante el crecimiento, el desarrollo y la diferenciación de estos organismos. En artrópodos, las enzimas quitinolíticas están implicadas en los procesos de metamorfosis y digestión. Durante la metamorfosis, los insectos degradan y resintetizan nueva cutícula. Este proceso es mediado por la presencia de estas enzimas en el líquido que se acumula en el espacio entre la cutícula y la epidermis. Los productos de la hidrólisis se reciclan para la síntesis de la nueva cutícula. En hongos, las enzimas quitinolíticas ayudan a degradar y a movilizar la materia orgánica e interfieren con el crecimiento de otros hongos. En levaduras, estas enzimas son importantes para la separación de las células (Kuranda y Robbins, 1991).

En el caso de las enzimas quitinolíticas aisladas de organismos que no contienen quitina, las enzimas quitinolíticas están implicadas en la adquisición de nutrientes (Benmouna *et al.*, 1986; Grisley, 1993; Grisley

y Boyle, 1990; Overbye et al., 1993), y en los seres humanos, estas enzimas se encuentran en los macrófagos, y pueden desempeñar un papel defensivo contra hongos y nematodos (Hollak et al., 1994).

En plantas, las enzimas quitinolíticas también juegan un papel defensivo, actuando como agentes de defensa contra hongos patógenos según se puede corroborar por: 1) La inducción coordinada de estas enzimas en la respuesta a la invasión de los patógenos (Roby y Esquerre-Tugaye, 1987); 2) El hecho de que estas enzimas sean potentes inhibidores de la germinación de esporas y del crecimiento *in vitro* de micelio de hongos fitopatógenos y que puedan hidrolizar las paredes celulares de los hongos (Broekaert et al., 1988; Mauch et al., 1988; Roberts y Selitrennikoff, 1988; Schlumbaum et al., 1986); 3) Los niveles más altos de actividad quitinolítica se observan en los cultivares resistentes, comparados con los cultivares susceptibles (Hughes y Dickerson, 1991; Vogelsang y Barz, 1990); y 4) Numerosos genes que codifican quitinasas, aislados de plantas y microorganismos, han sido clonados e introducidos en plantas, dando como resultado un incremento en la resistencia de estas plantas a hongos patógenos (Schickler y Chet, 1997).

La cutícula es el sitio de acción de las enzimas quitinolíticas. Las enzimas quitinolíticas y proteolíticas, producidas por hongos entomopatógenos tales como *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, están implicadas en el proceso de la penetración de la cutícula del exoesqueleto de los insectos (Tanada y Kaya, 1993). Se ha demostrado que la efectividad de los entomopatógenos se puede incrementar por la suplementación con enzimas quitinolíticas exógenas, provenientes de bacterias u hongos (El-Sayed et al., 1989; Gunner et al., 1985; Sampsom y Gooday, 1998). El nematodo *Bruglia malayi* también utiliza una quitinasa para romper la membrana peritrófica y así ganar la entrada al interior de su mosquito hospedero (Huber et al., 1991). Quitinasas de *Streptomyces griseus* adicionadas a la sangre, fuente de alimento del mosquito *Anopheles freeborni*, pueden evitar la formación de la membrana peritrófica en éste (Shahabuddin y Kaslow, 1993; Shahabuddin et al., 1993). Además, una endoquitinasa de la bacteria *Serratia marcescens*, producida como proteína recombinante en *Escherichia coli*, causó la perforación de la membrana peritrófica de larvas de *Spodoptera littoralis*, en condiciones *in vitro* (Regev et al., 1996).

La degradación de la quitina del intestino anterior y/o posterior puede influir en la adquisición del alimento, la retención del agua y/o la excreción. Además, la membrana peritrófica funciona como una barrera mecánica y física. Por lo tanto, la degradación de la membrana o la interferencia en su formación, disminuirá la protección del epitelio del intestino medio contra la abrasión por las partículas del alimento (Sudha y Muthu, 1988), protección contra la invasión por los patógenos (Brandt et al., 1978; Sieber et al., 1991), y/o protección contra los compuestos tóxicos potenciales (como taninos o DDT) (Abedi y Brown, 1961; Barbehenn y Martin, 1992), y finalmente, influirá en la permeabilidad selectiva de la membrana peritrófica y afectará el proceso de la digestión (Eguchi et al., 1982; Molinero y Lehane, 1990; Peters, 1992; Peters y Wiese, 1986; Zhu et al., 1991). En general, la destrucción de la membrana peritrófica afectará la supervivencia de los insectos.

Sin embargo, el papel de las enzimas quitinolíticas en la resistencia de la planta contra insectos es poco entendida (Broadway et al., 1998; Kramer et al., 1997b). Los insectos herbívoros ingieren regularmente enzimas quitinolíticas presentes en los tejidos de las plantas; así las zonas anterior, posterior y media del tracto digestivo se exponen a estas enzimas después de la disrupción de la célula de la planta. No hay indicación de que las enzimas quitinolíticas presentes en plantas tengan un efecto *in situ* perjudicial contra el herbívoro. Kramer et al. (1997b) afirman que aunque los granos de cereal tienen niveles sustanciales de quitinasas (10-100 µg/g), los granos almacenados son susceptibles al ataque de los insectos, lo que sugiere que los insectos que sobreviven en productos almacenados han desarrollado la capacidad de superar los efectos de estas quitinasas. El mismo grupo encontró que plantas de arroz transgénico que expresaban altos niveles de quitinasas (0,05% proteínas totales) no mostraban ningún efecto deletéreo en el crecimiento del gusano cogollero del maíz, *S. frugiperda* (Kramer et al., 1997b).

Es posible que las enzimas quitinolíticas de la planta no puedan tener actividad biológica contra insectos herbívoros, debido a los requerimientos de pH ácido de estas enzimas para ser activas (Broadway et al., 1998). Los insectos herbívoros, en general, tienen intestinos alcalinos (Berenbaum, 1980; Gringorten et al., 1993; Mishra y Sen-Sarma, 1987), o muestran un rango de pH diferente a lo largo de sus intestinos y, por lo tanto, las enzimas quitinolíticas de las plantas no tienen probablemente actividad dentro del intestino de

éstos. La gran mayoría de quitinasas de hongos y bacterias también muestran actividad enzimática óptima en un ambiente ácido. Las quitinasas bacterianas que actúan en ambientes ácidos, fueron inefectivas en ensayos en los cuales los insectos fueron alimentados con dietas artificiales que contenían estas enzimas. *Nilaparva lugens* no mostró ningún efecto al ingerir quitinasas de la bacteria *Streptomyces griseus* (Powell *et al.*, 1993). Las quitinasas de *Serratia* a niveles de 1-2%, en la dieta del escarabajo *Orizaephilus mercatmeor*, no tuvieron ningún efecto sobre el insecto (Kramer *et al.*, 1997b). Los estudios realizados por Gatehouse *et al.* (1996, 1997), mostraron que una enzima quitinolítica aislada de la haba (BCH) expresada en plantas de papa, no afecta el áfido *Myzus persicae* ni el lepidóptero *Lacanobia oleracea*.

Sin embargo, algunos parásitos y bacterias secretan enzimas quitinolíticas que funcionan en un ambiente alcalino. Broadway *et al.* (1995) aislaron una cepa de la bacteria *Streptomyces albidoflavus*, la cual secreta las enzimas endoquitinasa y quitobiosidasa, que son activas en un amplio rango de pH (4-10). Con el propósito de demostrar que estas enzimas podían ser activas y causar efectos adversos en el tracto digestivo de los insectos, incorporaron en dietas artificiales una mezcla de estas enzimas que contenían tres endoquitinasas, dos quitobiosidasas y una glucosaminidasa, en las que la actividad óptima de las tres enzimas ocurrió a pH 4-6, pero en el 55-74% de las quitobiosidasas y endoquitinasas la actividad se detectó a pH 8-10. La ingestión de esta mezcla de enzimas quitinolíticas en dietas artificiales, sobre el falso medidor, *Trichoplusia ni*, redujo su crecimiento y desarrollo. Cuando se evaluaron en dietas artificiales sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei*, el pulgón verde de la papa, *Myzus persicae*, y la mosca blanca, *Bemisia argentifolii*, causaron una reducción en el porcentaje de supervivencia de estos insectos. Por otra parte, los insectos también poseen enzimas quitinolíticas que funcionan en un ambiente alcalino (Koga *et al.*, 1989, 1992). Las características químicas, físicas y cinéticas de estas enzimas se han determinado y muestran actividad en rangos de pH de 4-8 (Kramer y Muthukrishnan, 1997a), aunque exhiben actividad máxima a pH 6 (Koga *et al.*, 1983). Estas enzimas tienen efectos biológicos negativos en los insectos (Ding *et al.*, 1998).

Plantas transgénicas expresando enzimas quitinolíticas

Góngora (1999) y Góngora *et al.* (2001) clonaron dos enzimas de *Streptomyces albidoflavus* (una endoquitinasa y una quitobiosidasa) y transformaron plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) con estos genes, con el propósito de determinar si las enzimas quitinolíticas con actividad a pH alcalino, aisladas de *S. albidoflavus*, podían actuar como factores de resistencia en plantas transgénicas e interactuar con la quitina del intestino de los insectos. Estas plantas fueron evaluadas por su efecto sobre el crecimiento y el desarrollo larval del *Trichoplusia ni*. Las plantas transgénicas de tomate, expresando estas enzimas, mostraron incremento en su resistencia a las larvas de *T. ni*, reduciendo consistentemente la tasa de crecimiento del insecto. Además, se observó un incremento en la mortalidad en dos de tres pruebas, en las que los insectos se alimentaron de hojas de plantas transgénicas. Los resultados de este estudio fueron similares a los encontrados en los trabajos previos sobre las dietas artificiales que contenían las enzimas. Además, el efecto de las plantas transgénicas no solamente se observó en insectos de primer ínstar, sino que también estas plantas causaron mortalidad y disminuyeron el peso de los insectos cuando la exposición comenzó durante el tercer ínstar. Los resultados de este estudio soportan la hipótesis de que la ingestión de enzimas quitinolíticas de *S. albidoflavus* altera la quitina de la membrana peritrófica, ya que se determinó que los poros de las membranas peritróficas de los insectos que consumían plantas transgénicas tenían el diámetro un 50% mayor que los poros en los insectos que se alimentaban de plantas no transgénicas, con el respectivo incremento de la permeabilidad de la membrana. Un aumento en el tamaño de los poros en la membrana peritrófica puede hacer de ésta una barrera menos eficaz, aumentando la susceptibilidad de insectos a los patógenos y a los compuestos tóxicos (Brandt *et al.*, 1978; Sieber *et al.*, 1991) y disminuyendo la eficacia del proceso digestivo.

De igual forma, una quitinasa del gusano cachón del tabaco, *Manduca sexta*, aislada del líquido de metamorfosis se clonó y usó para la transformación de plantas de tabaco (Ding *et al.*, 1998). En este caso, las plantas transgénicas mostraron resistencia al gusano del algodón, *H. virescens*, constatado por la reducción del crecimiento larval y en el daño en las plantas. Sin embargo, no se observó ningún efecto sobre *M. sexta*. Aunque los autores concluyeron que la concentración de enzimas quitinolíticas era posiblemente demasiado baja para afectar a *M. sexta*, es posible que este insecto tenga un mecanismo para regular sus propias enzimas quitinolíticas. Cuando las plantas transgénicas estuvieron cubiertas con concentraciones

subletales del *B. thuringiensis*, en ambas especies de insectos (*H. virescens* y *M. sexta*), se observó una reducción en el peso larval y en el daño foliar en las plantas transgénicas. Las plantas que expresen quitinasas de insectos pueden tener potencial agronómico para el control de éstos, y el uso de las quitinasas de insectos, solas o en conjunto con otros genes o controladores biológicos, puede realzar el efecto de los biocontroladores. Sin embargo, los insectos también tienen mecanismos para regular y/o para inhibir la actividad de sus propias enzimas. Genes que codifiquen quitinasas que sean activas en un amplio rango de pH deben ser estudiadas en mayor detalle. Estas proteínas tienen el potencial para ser factores de resistencia en plantas contra insectos, ya que causan alteraciones de la permeabilidad de la membrana peritrófica en los insectos herbívoros, ocasionando su muerte y ayudando en su control, además pueden potenciar el efecto de controladores biológicos. Los organismos vertebrados, por no poseer quitina, no tienen un sitio sobre el cual puedan actuar las quitinasas, por lo tanto, éstas se consideran seguras con respecto a la salud humana.

Café transgénico resistente a insectos

La producción de variedades de café resistentes a plagas es el objetivo de varios programas de mejoramiento genético del café. Las principales plagas que atacan el cultivo del café son la broca del café, *H. hampei*, y el minador de la hoja, *Leucoptera coffeellum*. Los genes que codifican las proteínas CryI(c), CryIIb y CryIE de *B. thuringiensis* (Bt), han demostrado su toxicidad hacia el minador de la hoja, por lo que estos genes heterólogos podrían servir como fuente de resistencia a esta plaga (Guerreiro-Filho et al., 1998). En plantas transgénicas de *Coffea canephora* se introdujo el gen *cry1Ac* y se logró demostrar la presencia de plantas cultivadas en el invernadero y en los campos experimentales de Guyana Francesa, altamente resistentes al minador de la hoja. Las plantas transformadas incorporaron el promotor constitutivo pEF1 α , de *Arabidopsis thaliana*, para modular la expresión del gen nativo *cry1Ac* de *B. thuringiensis* (8 clones) y una versión sintética del gen Cry1Ac (53 clones) (Leroy et al., 2000). La evaluación agronómica de este estudio se realizó a partir de 54 eventos diferentes de transformación y durante cuatro años de cultivo de las plantas en el campo. El 70% de las plantas transgénicas mostraron ser resistentes, con características agronómicas iguales a las plantas testigo (Perthuis et al., 2005). Desafortunadamente, el ensayo de campo fue sujeto de vandalismo y el experimento tuvo que ser suspendido (Montagnon, 2005).

Para el caso del control de la broca, el gen de un inhibidor de α -amilasas aislado de *Phaseolus vulgaris* ha sido considerado como candidato para ser introducido al genoma del café. Los bioensayos *in vitro* con este inhibidor han demostrado que esta proteína puede inhibir el crecimiento y el desarrollo de la broca (Barbosa et al., 2004). Con este gen heterólogo se han transformado genéticamente plantas de *Coffea arabica*, pero aún no se han evaluado en condiciones de campo. De igual forma, el gen del inhibidor de α -amilasas aislado de *Phaseolus coccineus*, una vez transferido al genoma del tabaco por transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, codifica en la semilla una proteína que inhibe el 65% las α -amilasas digestivas de la broca, con lo que se confirmó el uso potencial de estos genes para el control genético de la broca del café (Pereira et al., 2006).

Consideraciones finales

Una de las razones detrás del uso de plantas modificadas genéticamente para el control de los insectos es la falta de efectividad de otras medidas de control, tal es el caso de los insecticidas utilizados para el manejo de plagas limitantes en la producción de los cultivos. Además del daño al medio ambiente y a la salud que pueden causar estos insecticidas. Los cultivos transgénicos comercializados actualmente han mostrado ser efectivos en el control de las plagas, para las cuales se han desarrollado, y han mostrado ser seguros.

La información disponible ha permitido evaluar los impactos ambientales de los cultivos modificados, también ha demostrado que estos cultivos han producido beneficios ambientales y ecológicos comparados con otras tecnologías, a las cuales éstos han remplazado. Es un hecho que el cultivo de plantas modificadas con Bt ha ocasionado una disminución considerable en el uso de plaguicidas, lo cual conlleva a una menor contaminación ambiental, ahorros en energía, mayor producción y por ende, un favorecimiento de la sostenibilidad y la conservación.

Muchas de las críticas frente a los cultivos modificados se deben más a dudas acerca de la naturaleza cambiante de la agricultura que a temores relacionados con los cultivos (Beringer, 2000).

Aunque se sabe que los insectos también pueden desarrollar resistencia a las plantas transgénicas, el conocimiento de su modo de acción sobre los insectos, los monitoreos cercanos y continuos, y la toma de medidas para evitar el desarrollo de la resistencia, han permitido que estos cultivos sean efectivos contra sus insectos plagas. Una de las inquietudes con el uso de plantas transgénicas es el problema del flujo de genes y el entrecruzamiento entre las plantas modificadas y los cultivos silvestres o no modificados, y los posibles efectos de este flujo de genes en la flora local. Es importante anotar que éste es un hecho que se ha presentado en la naturaleza y se ha venido dando por siglos, mucho antes de la aparición de los cultivos transgénicos. El punto fundamental en este aspecto es tener un conocimiento acerca del cultivo, de tal forma que las áreas donde se está sembrando no pueden ser un centro de diversidad o exista la probabilidad de cruzamiento con las especies silvestres. Todo esto dependerá de si la resistencia a insectos confiere o no una ventaja al cultivo silvestre y si esa ventaja permitirá que las plantas no modificadas se conviertan en una arvense o una planta que pueda tener efectos negativos en el ambiente.

Aunque el público tiene preocupaciones reales y legítimas acerca del uso de estos cultivos, siguiendo las regulaciones gubernamentales y el método científico, por esta vía y utilizando proteínas diferentes a Bt y que tienen potencial para el control de insectos, se podrán desarrollar nuevos cultivos resistentes a insectos que resolverán los problemas de los agricultores y que presentarán menos riesgos para las comunidades y el medio ambiente.

Literatura citada

- ABE, J. I.; SIDENIUS, U.; SVENSSON, B. 1993. Arginine is essential for the α -amylase inhibitory activity of the α -amylase/subtilisin inhibitor (BASI) from barley seeds. *Biochem. J.*, 293: 151-155.
- ABEDI, Z. H.; BROWN, A. W. A. 1961. Peritrophic membrane as a vehicle for DDT and DDE excretion in *Aedes aegypti* larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 54: 539-542.
- ADANG, M. J.; DEBOER, D.; ENDRES, J.; FIROOZABADY, E.; KLEIN, J.; MERLO, A.; MERLO, D.; MURRAY, E. 1988. Manipulation of *Bacillus thuringiensis* genes for pest control. In: D. W. Roberts, R.; Granados, R., eds., *Biotechnology, biological pesticides, and novel plant-pest resistance for insect pest management*. Cornell University, Ithaca, 175 p.
- AGBIOS. 2006. (<http://www.agbios.com/cstudies.php?ESA&ev=MON810&chapter=IRM&lang=ES>)
- AKHURST, R. J.; JAMES, W.; BIRD, L. J.; BEARD, C. 2000. Resistance to the Cry1Ac δ -Endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 96 (4): 1290-1299.
- ÁLVAREZ-BUYLLA ROCES, E. 2005. Aspectos ecológicos, biológicos y de agrobiodiversidad de los impactos del maíz transgénico en alimentos transgénicos. UNAM-Siglo Veintiuno Editores, México.
- ALVARADO, M.; ARANDA, E.; DURÁN, J. M.; JIMENÉZ, J. L.; MATEOS, J.; TORRENT, P. 1997. TRIANA algodón. Programa informático para el manejo integrado. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía.
- BARBEHENN, R. V.; MARTIN, M. M. 1992. The protective role of the peritrophic membrane in the tannin-tolerant larvae of *Orgyia leucostigma* (Lepidoptera). *J. Insect Physiol.*, 38: 973-980.
- BARBOSA, A.; PEREIRA, R.; BARROS, E.; DA SILVA, M.; FIGUEIRA, E.; OLIVEIRA, O.; CHRISPEELS, M. J.; VALENCIA, A.; GROSSI de SA, M. F. 2004. Inhibidores de α -amylase e suas aplicacoes no control da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*): In: Anais do Workshop Internacional de Manejo da Broca-do-café, 2004, Londrina-Paraná, p. 273-282.
- BERINGER, J. 2000. Releasing genetically modified organisms: will any harm outweigh any advantage?. *J. Appl. Ecol.*, 37: 207-214.

- BARTON, K. A.; WHITELEY, H. R.; YANG, N. S. 1987. *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin expressed in transgenic *Nicotiana tabacum* provides resistance to lepidopteran insects. *Plant Physiol.*, 85: 1103-1109.
- BELZUNCES, L. P.; LENFANT, C. D. I.; PASQUALE, S.; COLIN, M. E. 1994. *In vivo* and *in vitro* effects of wheat germ agglutinin and Bowman-Birk soybean trypsin inhibitor, two potential transgene products, on midgut esterase and protease activities from *Apis mellifera*. *Comparative biochemistry and physiology. Part B. Biochemistry & molecular biology*, 109 (1): 63-69.
- BENEDICT, J. H.; RING, D. R. 2004. Transgenic crops expressing Bt proteins: Current status, challenges and outlook. *In*: Koul O., Dhaliwal G. S., eds. *Transgenic Crop Protection: Concepts and strategies*. Oxford University Press and IBH Publishing Co, New Delhi, p. 15-84.
- BENNETT, J.; COHEN, M. B.; KATIYAR, S. K.; GHAREYAZIE, B.; KUSH, G. S. 1997. Enhancing insect resistance in rice through biotechnology. *In*: Carozzi, N.; Koziel, M.; Taylor y Francis, eds. *Advances in insect control. The role of transgenic plants*, p. 75-93.
- BENMOUNA, H.; JASPAR-VERSALI, M. F.; TOUSSAINT, C.; JEUNIAUX, C. 1986. A comparative study of chitinase activity in digestive tract of *Serranum cabrilla* and *Serranus scriba*. *Biochem. System. Ecol.*, 14: 435-437.
- BERENBAUM, M. 1980. Adaptive significance of midgut pH in larval Lepidoptera. *Amer. Natural.* 115, 138-146.
- BERNAL J. S.; GRISET, J. G.; GILLOGLY, P. O. 2002. Impacts of developing on Bt maize-intoxicated hosts on fitness parameters of a stem borer parasitoid. *Journal of Entomological Science*, 37: 27-40.
- BETZ, F. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L. 2000. Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis*- protected plants to control insect pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32: 156-173.
- BEVAN, M. W.; FLAVELL, R. B.; CHILTON, M. 1983. A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. *Nature*, 304: 184 – 187.
- BIELKA, H.; DIXON, H. B. F.; KARLSON, P.; LIEBECQ, C.; SHARON, N.; VAN LENTEN, E. J.; VELICK, S. F.; Vliegenthart, J. F. G.; WEBB, E. C.; CORNISH-BROWN, A.; LOENING, K.; MOSS, G. P.; REEDIJK, J. 1984. *Enzyme nomenclature*. Ed. E. C. Webb. Academic Press, New York, 646 p.
- BILLETER, M.; KLINE, A. D.; BRAUN, W.; HUBER, R.; WUTHRICH, K. 1989. Comparison of the high-resolution structures of the α -amylase inhibitor tendamistat determined by nuclear magnetic resonance in solution and by X-ray diffraction in single crystals. *J. Mol. Biol.*, 206: 677-687.
- BLOCH JR, C.; RICHARDSON, M. 1991. A new family of small (5 kD) protein inhibitors of insect α -amylase from seeds of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) have sequence homologies with wheat D-purothionins. *FEBS Lett.*, 279: 101-104.
- BOURGUET, D.; CHAUFaux, J.; MICOUD, A.; DELOS, M.; NAIBO, B.; BOMBARDE, F.; MARQUE, G.; EYCHENNE, N.; PAGLIARI, C. 2002. *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). *Environ. Biosafety Res.*, 1: 49-60.
- BOWN, D. P.; WILKINSON, H. S.; GATEHOUSE, J. A. 1997. Differentially regulated inhibitor-sensitive and insensitive protease genes from the phytophagous insect pest, *Helicoverpa armigera*, are members of complex multigene families. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 27 (7): 625-638.
- BRANDT, C. R.; ADANG, M. J.; SPENCE, K. D. 1978. The peritrophic membrane: Ultrastructural analysis and function as a mechanical barrier to microbial infection in *Orgyia pseudotsugata*. *J. Invertebr. Pathol.*, 32: 12-24.
- BRAVO, A.; SOBERON, M.; GILL, S. S. 2005. *Bacillus thuringiensis*: Mechanisms and use. *In*: Comprehensive molecular insect science. Vol. 6, Editors: Lawrence I. Gilbert. Kostas Iatrou. Sarjeet S. Gill. Elsevier Pergamon, p. 175-205.
- BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. 1986. Plant proteinase inhibitors: mechanism of action and effect on the growth and digestive physiology of larval *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*. *J. Insect Physiol.*, 32: 827-833.
- BROADWAY, R. M. 1995. Are insects resistant to plant proteinase inhibitors? *Journal of Insect Physiology*, 41: 107-116.

- BROADWAY, R. M. 1997. Dietary regulation of serine proteinase that are resistant to serine proteinase inhibitors. *J. Insect Physiol.*, 41: 855-874.
- BROADWAY, R. M.; WILLIAMS, D. L.; KAIN, W. C.; HARMAN, G. E.; LORITO, M.; LABEDA, D. P. 1995. Partial characterization of chitinolytic enzymes from *Streptomyces albidoflavus*. *J. Appl. Microbiol.*, 20: 271-276.
- BROADWAY, M. R.; GONGORA, C.; KAIN, C. K.; SANDERSON, P. J.; MONROY, A. J.; BENNET, C. K.; WARNER, B. J.; HOFFMANN, P. M. 1998. Novel chitinolytic enzymes with biological activity against herbivorous insects. *J. Chem Ecol.*, 24: 985-998.
- BROEKAERT, W. F.; VAN PARIJS, J.; ALLEN, A. K.; PEUMANS, W. J. 1988. Comparison of some molecular, enzymatic and antifungal properties of chitinases from thorn-apple, tobacco and wheat. *Physiol. Molec. Plant Pathol.*, 33: 319-331.
- BRYDON, L.; GOODAY, G. W.; CHAPPELL, L. H.; KING, T. P. 1989. Chitin in egg shells of *Onchocerca gibsoni* and *Onchocerca volvulus*. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 25: 267-272.
- CARPENTER, J. E.; GIANESSI, L. P. 2001. Agricultural biotechnology: updated benefit estimates.. National Center for Food and Agricultural Policy, Washington, D. C., p 1-56.
- CAVALIERI, T.; CZAPLA, J.; HOWARD, G.; RAO, G. 1995. Larvicidal lectins and plant insect resistance based thereon. US Patent N 5407545.
- CENICAFÉ. 2003. Búsqueda de nuevos genes de resistencia a la broca del café. Resumen del informe anual de actividades. Cenicafe, Chinchiná, Colombia, noviembre de 2003, p. 91-92.
- CENICAFÉ. 2004. Obtención de plantas transgénicas de tabaco (*Nicotiana benthamiana* expresando un gen del inhibidor de amilasas de *Phaseolus vulgaris*, var. radical. Resumen del informe anual de actividades. Cenicafe, Chinchiná, Colombia, noviembre 2004, p. 97-98.
- CHAGOLLA-LÓPEZ, A.; BLANCO-LABRA, A.; PATTHY, A.; SÁNCHEZ, R.; PONGOR, S. 1994 A novel α -amylase inhibitor from Amaranth (*Amaranthus hypocondriacus*) seeds. *J. Biol. Chem.*, 269: 23675-23680.
- CHEN, A. C. 1987. Chitin metabolism. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 6: 267-277.
- CHRISPEELS, M. J. 1997. Transfer of bruchid resistance from the common bean to other starchy grain legumes by genetic engineering with the α -amylase inhibitor gene. *In: Advances in insect control: The role of transgenic plants.* Carozzi N.; Koziel, M., eds., London, Taylor & Francis Publishers, p 139-156.
- COLLINGE, D. B.; KRAGH, K. M.; MIKKELSEN, J. D.; NIELSEN, K. K.; RASMUSSEN, U.; VAD, K. 1993. Plant Chitinases. *Plant Journal*, 3: 31-40.
- CRICKMORE, N.; ZEIGLER, D. R.; FEITELSON, J.; SCHNEPF, E.; VAN RIE, J.; LERECLUS D.; BAUM J.; DEAN, D. H.. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62: 807-813.
- CZAPLA, T. H. 1997. Plant lectins as insect control proteins in transgenic plants. *In: Carozzi, N.; Koziel, M., eds. Advances in insect control.* London: Taylor & Francis Publishers, chap. 8, p.123-138.
- CZAPLA, T. H.; LANG, B. A. 1990. Effect of plant lectins on the larval development of european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.*, 83 (6): 2480-2485.
- DING, X.; GOPALAKRISHNAN, B.; JHONSON, L. B.; WHITE, F. F.; WANG, X.; MORGAN, T. D.; KRAMER, K. J.; MUTHUKRISHNAN, S. 1998. Insect resistance of transgenic tobacco expressing an insect chitinase gene. *Transgenic Research*, 7: 77-84.
- DUAN, X.; LI, X.; XUE, Q.; ABO-EL-SAAD, M.; XU, D.; WU, R. 1996. Transgenic rice plants harboring an introduced potato proteinase inhibitor II gene are insect resistant. *Nature Biotechnology*, 14: 494-498.
- DUCK, N.; EVOLA, S. 1997. Use of transgenes to increase host plant resistance to insects: opportunities and challenges. *In Advances in insect control: The role of transgenic plants.* Carozzi N.; Koziel, M., eds., London, Taylor & Francis Publishers, p. 1-18.

- DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. 2005. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114 (3): 161–169.
- EGUCHI, M.; IWAMOTO, A.; YAMAUCHI, K. 1982. Interrelation of proteases from the midgut lumen, epithelia and peritrophic membrane of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, 72A: 359-363.
- EISEMANN, C. H. DONALDSON, R. A.; PEARSON, R. D.; CADOGAN, L. C.; VUOCOLO, T.; TELLAM, R. L. 1994. Larvicidal activity of lectins on *Lucilia cuprina*: mechanism of action. *Entomologia Experimentalis et applicata*, 72 (1): 1570-7458.
- ELANGO, N., CORREA, J.; CABIB, E. 1982. Secretory character of yeast chitinase. *J. Biol. Chem.*, 257: 1398-1400.
- EL-SAYED, G. N.; COUDRON, T. A.; IGNOFFO, C. M.; RIBA, G. 1989. Chitinolytic activity and virulence associated with native and mutant isolates of an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*. *J. Invert. Pathol.*, 54: 394-403.
- ENGLISH, L.; SLATIN, S. L. 1992. Mode of action of delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*: A comparison with other bacterial toxins. *J. Biochem. Molec. Biol.*, 22 (1): 1-7.
- EPA Environmental Protection Agency. 1998. FIFRA Scientific Advisory Panel, Subpanel on *Bacillus thuringiensis* (Bt) plant-pesticides and resistance management, February 9 - 10, 1998 (OPP Docket No. 00231).
- EPA. 2001. Registration action document for *Bacillus thuringiensis* plant-incorporated protectants. U.S. EPA, <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/>.
- FAN, S. G.; WU, G. J. 2005. Characteristics of plant proteinase inhibitors and their applications in combating phytophagous insects phytophagous insects. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46: 273-292.
- FAO. 2004. The state of food and agriculture 2003-2004. Agricultural meeting the needs of the poor? Section B. The evidence so far. Food and Agriculture Organization of the United National, Rome, <http://www.fao.org/docrep>.
- FELTON, G. W.; DONATO, K. K.; BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. S. 1992. Impact of oxidized plant phenolics on the nutritional quality of dietary protein to a noctuid herbivore, *Spodoptera exigua*. *J. Insect Physiol.*, 38: 277-285.
- FERNÁNDEZ-CORNEJO, J.; McBRIDE, W. D. 2000. Genetically engineered crops for pest management in U.S. agriculture: Farm-level effects. U.S. Department of Agriculture. Agricultural Economic Report No. 786, p 1-16.
- FISCHHOFF, D. A.; BOWDISH, K. S.; PERLAK, F. J.; MARRONE, P. G.; MCCORMICK, S. M.; NIEDERMEYER, J. G.; DEAN, D. A.; KUSANO-KRETZMER, K.; MAYER, E. J.; ROCHESTER, D. E.; ROGERS, S. G.; FRALEY, R. T. 1987. Insect tolerant transgenic tomato plants. *Biotechnology*, 5: 807-813.
- FITCHES, E.; GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A. 1997. Effects of snowdrop lectin (GNA) delivered via artificial diet and transgenic plants on the development of tomato moth (*Lacanobia oleracea*) larvae in the laboratory and glasshouse trial. *Journal of Insect Physiology*, 43: 727-739.
- FLACH, J.; PILET, P. E.; JOLLES, P. 1992. What's new in chitinase research? *Experientia*, 48: 701-716.
- FRALEY, R. T.; ROGERS, S. G.; HORSCH, R. B.; SANDERS, P. R.; FLICK, J. S.; ADAMS, S. P.; BITTNER, M. L.; BRAND, L. A.; FINK, C. L.; FRY, J. S.; GALLUPPI, G. R.; GOLDBERG, S. B.; HOFFMANN, N. L.; WOO, S. C. 1983. Expression of bacterial genes in plant cells. *PNAS*, 80 (15): 4803-4807.
- FRANCO, O. L.; RIGDEN, D. J.; MELO, F. R.; BLOCH JR., C.; SILVA, C. P.; GROSSI DE SAÂ, M. F. 2000. Activity of wheat α -amylase inhibitors towards bruchid α -amylases and structural explanation of observed specificities. *Eur. J. Biochem.*, 267 (8): 1466-1473.
- FUJIMOTO, H. K.; YAMAMOTO, I. M.; KYOZUKA, J.; SHIMAMOTO, K. 1993. Insect resistance rice generated by introduction of a modified δ -endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnology*, 11: 1151-1155.
- GARCÍA-MAROTO, F.; CARBONERO, P.; GARCÍA-OLMEDO, F. 1991. Site-directed mutagenesis and expression in *Escherichia coli* of WMAI-1, a wheat monomeric inhibitor of insect α -amylase. *Plan Mol. Biol.*, 17: 1005-1011.

- GATEHOUSE, A. M.; DAVISON, G. M.; NEWELL, C. A.; MERRYWEATHER, A.; HAMILTON, J. D.; BURGESS, E. P.; GILBERT, R. J.; GATEHOUSE, J. A. 1997. Transgenic potato plants with enhanced resistance to the tomato moth, *Lacanobia oleracea*: growth room trials. *Molecular Breeding*, 3: 49-63.
- GATEHOUSE, A. M.; DOWN, R. E.; POWELL, K. S.; SAUVION, N.; RAHBE, Y.; NEWELL, A.; MERRYWEATHER, A.; HAMILTON, W. D.; GATEHOUSE, J. A. 1996. Transgenic potato plants with enhance resistance to the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 79: 295-307.
- GATEHOUSE, A. M. 1999. Biotechnological applications of plant genes in the production of insect resistant crops. In S.L. Clement and S.S. Quisenberry (eds.), *Global Plant Genetic Resources for Insect Resistant Crops*, London, CRC Press, p. 263-280.
- GIRI, A. P.; KACHOLE, M. V. 1998. Amylase inhibitors of pigeonpea (*Cajanus cajan*) seeds. *Phytochemistry* 47: 197-202.
- GOLDSTEIN, I. J.; HUGHES, R. C.; MONSIGNY, M.; OSAWA, T.; SHARON, N. 1980. What should be called a lectin. *Nature*, 285: 66.
- GÓNGORA, C. E. 1999. Chitinolytic transgenes from *Streptomyces albidoflavus* as phytochemical defences against herbivorous insects, use in transgenic plants and effect in plant development. Cornell University. Doctoral Dissertation, 290 p.
- GÓNGORA, C. E.; WANG, S.; BARBEHENN, R. V.; BROADWAY, R. M. 2001. Chitinolytic enzymes from *Streptomyces albidoflavus* expressed in tomato plants: effects on *Trichoplusia ni*. *Entomol. Exp. Appl.*, 99: 193-204.
- GONZÁLEZ-NÚÑEZ, M.; ORTEGO, F.; CASTAÑERA, P. 2000. Susceptibility of Spanish populations of the corn borers *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) to a *Bacillus thuringiensis* endotoxin. *Journal of Economic Entomology*, 93 (2): 459-463.
- GOODAY, G. W. 1986. Chitinase activities in animals, fungi and bacteria. In *Chitin in nature and technology*. K. Muzzarelli, C. Jeuniaux and B. W. Gooday, eds., Plenum Press New York, p. 241-261.
- GOODAY, G. W.; BRYDON, L. J.; CHAPPELL, L. H. 1988. Chitinase in female *Onchocerca gibsoni* and its inhibition by allosamidin. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 29: 223-225.
- GOULD, F. 1998. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annual Review of Entomology*, 43: 701-726.
- GOULD, F.; MARTÍNEZ-RAMÍREZ, A.; ANDERSON, A.; FERR, J.; SILVA, F. J.; MOA, W. J. 1992. Broad-spectrum resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in *Heliothis virescens*. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89: 7986-7990.
- GOULD, F. A.; ANDERSON, A.; JONES, D.; SUMERFORD, D. G.; HECKEL, J.; LÓPEZ, S.; MICINSKI, R.; LASTER, L. M.. 1997. Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 94: 3519-3523.
- GRINGORTEN, J. L.; CRAWFORD, D. N.; HARVEY, W. R. 1993. High pH in the ectoperitrophic space of the larval lepidopteran midgut. *J. Exp. Biol.*, 183: 353-359.
- GRISLEY, M. S. 1993. Separation and partial characterization of salivary enzymes expressed during prey handling in the octopus *Eledone cirrhosa*. *Comp. Biochem. Physiol.* 105B, 183-192.
- GRISLEY, M. S.; BOYLE, P. R. 1990. Chitinase, a new enzyme in octopus saliva. *Comp. Biochem. Physiol.*, 95B: 311-316.
- GROSSI DE SÁ, M. F.; MIRKOV, T. E.; ISHIMOTO, M.; COLUCCI, G.; BATEMAN, K. S. , CHRISPEELS, M. J. 1997. Molecular characterization of a bean α -amylase inhibitor that inhibits the α -amylase of the Mexican bean weevil *Zabrotes subfasciatus*. *Planta*, 203: 295-303.
- GUERREIRO FILHO, O.; DENOLF, P.; PEFEROEN, M.; ESKES, A. B.; FRUTOS, R. 1998. Susceptibility of the coffee leaf miner (*Perileucoptera* spp.) to *Bacillus thuringiensis* Delta-Endotoxins: a model for transgenic perennial crops resistant to endocarpic insects. *Current Microbiol.*, 36: 175-179.
- GUNNER, H. B.; ZIMET, M.; BERGER, S. 1985. Chitinase producing Bt strains. *Proceeding of Symposium: Microbial control of spruce budworm and gypsy moths*. U.S. Forest Service. Windsor Locks, CT, p. 103 -108.

- HAMILTON, K. A.; GOODMAN, R. E.; FUCHS, R. L. 2002. Safety assessment of insect protected cotton. *In*: J. A. Thomas and R. L. Fuchs, (eds): Biotechnology and safety assessment. Academic Press, London, U.K., p. 435-465.
- HEAD, G.; DIVEY, G. 2004 Impact of transgenic Bt crops on non-target animal species *In*: Koul O.; Dhaliwal G. S., eds. Transgenic crop protection: Concepts and strategies. Oxford University Press and IBH Publishing Co, New Delhi, p. 307-324.
- HELLMICH, R.L.; SIEGFRIED, B.D.; SEARS, M.K.; STANLEY-HORN, D.E.; DANIELS, M.J. MATTILA, H.R.; SPENCER, T.; BIDNE, K.G.; LEWIS, L.C. 2001. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis* purified proteins and pollen. PNAS, 98: 11925-11930.
- HEPHER, A.; EDWARDS, G.; GATEHOUSE, J. 1989. Improvements relating to transgenic plants. European Patent Application N89201899.5.
- HERRERA-ESTRELLA, L.; DEPICKER, A.; VAN MONTAGU, M.; SCHELL, J. 1983. Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. Nature, 303: 209 – 213.
- HILDER, V. A.; GATEHOUSE, A. M. R.; SHEERMAN, S. E.; BARKER, R. F.; BOULTER, D. 1987. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. Nature, 330: 160 – 163.
- HILDER, V. A.; POWELL, K. S.; GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A.; GATEHOUSE, L. N.; SHI, Y.; HAMILTON, W. D. O.; MERRYWEATHER, A.; NEWELL, C. A.; TIMANS, J. C.; PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E.; BOULTER, D. 1995. Expression of snowdrop lectin in transgenic tobacco plants results in added protection against aphids. Transgenic Research, 4 (1): 18-25.
- HOFFMAN, L.; MA, Y.; BARKER, R. F. 1982. Molecular cloning of *Phaseolus vulgaris* lectin mRNA and use of cDNA as a probe to estimate lectin transcripts levels in various tissues. Nucleic Acid Research, 10: 7819-7828.
- HOFMANN, C.; VANDERBRUGGEN, H.; HÖFTE, H.; VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; VAN MELLAERT, H. 1988. Specificity of *B. thuringiensis* delta-endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midguts, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 7844-7848.
- HÖFTE, H.; WHITELEY, H. R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiol. Rev., 53: 242-55.
- HOLLAK, C. E.; VAN, W., S.; VAN OERS, M. H.; AERT, J. M. 1994. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. J. Clin. Invest., 93: 1288-1292.
- HUBER, M.; CABIB, E.; MILLER, L. H. 1991. Malaria parasite chitinase and penetration of the mosquito peritrophic membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 2807-2810.
- HUGHES, R. K.; DICKERSON, A. G. 1991. Modulation of elicitor-induced chitinase and b-1, 3-glucanase activity by hormones in *Phaseolus vulgaris*. Plant Cell Physiol., 32: 853-861.
- IPCS. 1999. International programme on chemical safety - Environmental Health Criteria 217: Microbial Pest Control Agent *Bacillus thuringiensis*. World Health Organization, Geneva, Switzerland, p. 1-82.
- ISHIMOTO, M.; CHRISPPELS, M. J. 1996. Protective mechanism of the mexican bean weevil against high levels of a-amylase inhibitor in the common bean. Plant Physiol., 111: 393-401.
- ISHIMOTO, M.; KITAMURA, K. 1989. Growth inhibitory effects of an α -mylase inhibitor from kidney bean, *Phaseolus vulgaris* (L.) on three species of bruchids (Coleoptera: Bruchidae). Appl. Entomol. Zool., 24: 281-286.
- ISHIMOTO, M.; SATO, T.; CHRISPPELS, M. J.; KITAMURA, K. 1996. Bruchid resistance of transgenic azuki bean expressing seed α -amylase inhibitor of common bean. Entomol. Exp. Appl., 79: 309-315.
- IULEK, J., FRANCO, O. L., SILVA, M.; SLIVINSKI, C. T.; BLOCH JR, C.; RIGDEN, D. J.; GROSSI DE SA, M. F. 2000. Purification, biochemical characterisation and partial primary structure of a new a-amylase inhibitor from *Secale cereale* (Rye). Inter. J. Biochem.Cell Physiol., 32: 1195-1204.
- JAMES, C. 2002. Global review of commercialized transgenic crops: 2001 feature: Bt cotton. ISAAA Briefs No. 26. ISAAA, Ithaca, N. Y., 184 p.

- JAMES, C. 2004. Preview: Global status of commercialized transgenic crops: 2004. ISAAA Briefs. No. 32. ISAAA, Ithaca, N. Y., 2 p.
- JOHNSON, R.; NARVAEZ, J.; AN, G.; RYAN, C. 1989. Expression of proteinase inhibitors I and II in transgenic tobacco plants: Effects on natural defense against *Manduca sexta* larvae. Proc. National Academy of Sciences, USA, 86 (24): 9871-9875.
- KASHLAN, N.; RICHARDSON, M. 1981. The complete amino acid sequence of a major wheat protein inhibitor of α -amylase. Phytochemistry, 20: 1781-1784.
- KLOPFENSTEINS, N. B.; ALLEN, K. K.; AVILA, F. J. 1997. Proteinase inhibitor II gene in transgenic poplar: chemical and biological assays. Biomass and Bioenergy, 12: 299-311.
- KOGA, D.; FUJIMOTO, H.; FUNAKOSHI, T.; UTSUMI, T.; IDE, A. 1989. Appearance of chitinolytic enzymes in integument of *Bombyx mori* during the larval-pupal transformation. Evidence for zymogenic forms. Insect Biochem., 19: 123-128.
- KOGA, D.; HIRATA, T.; SUESHIGE, N.; TANAKA, S.; IDE, A. 1992. Induction patterns of chitinases in yam callus by inoculation with autoclaved *Fusarium oxysporum*, ethylene, and chitin and chitosan oligosaccharides. Biosci. Biotech. Biochem., 56: 280-285.
- KOGA, D.; JILKA, J.; KRAMER, K. J. 1983. Insect endochitinases: glycoproteins from moulting fluid, integument and pupal haemolymph of *Manduca sexta* L. Insect Biochem., 13: 295-305.
- KOUL, O.; DHALIWAL, G. S. 2004. Transgenic Crop Protection: An introduction. In: Koul O., Dhaliwal G. S., eds. Transgenic crop protection: Concepts and strategies. Oxford University Press and IBH Publishing Co, New Delhi, p. 1-20.
- KRAMER, K. J.; MUTHUKRISHNAN, S. 1997a. Insect chitinases: molecular biology and potential use as biopesticides. Insect Biochem Mol. Biol., 27: 887-900.
- KRAMER, K. J.; MUTHUKRISHNAN, S.; JOHNSON, L.; WHITE, F. 1997b. Chitinase for insect control. In: Advances in insect control: the role of transgenic plants. N. Carozzi and M. Koziel, eds. London: Taylor & Francis Publish. Co., p. 185-193.
- KURANDA, M. J.; ROBBINS, P. W. 1991. Chitinase is required for cell separation during growth of *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem., 266: 19758-19767.
- LA-JOLO, F. M.; FINARDI-FILHO, F.; MENEZES, E. W. 1991. Amylase inhibitors in *Phaseolus vulgaris* bean. Food Technol., 8: 119-121.
- LAYER, P.; CARLSON, G. L.; DIMANGO, E. P. 1985. Partial purified white bean amylase inhibitor reduces digestion *in vitro* and inactivates intraduodenal amylases in humans. Gastroenterology, 88: 1895-1902.
- LEGASPI, J. C.; LEGASPI Jr., B. C.; SÉTAMOU, M. 2004. Insect resistant transgenic crops expressing plant lectins. In: Koul O., Dhaliwal G. S., eds. Transgenic crop protection: Concepts and strategies. Oxford University Press and IBH Publishing Co, New Delhi, p. 85-116.
- LEROY, T.; HENRY, A. M.; ROYER, M.; ALTOSAAR, I.; FRUTOS, R.; DURIS, D.; PHILIPPE, R. 2000. Genetically modified coffee plants expressing the *Bacillus thuringiensis* cry1Ac gene for resistance to leaf miner. Plant Cell Report, 19: 382-389.
- LLEWELLYN, D. J.; HIGGINS, T. J. V. 2002. Transgenic crops plants with increases tolerance to insect pest. In: Plant Biotechnology and transgenic Plants. Edited by Kirsi-Marja-Oksman, Caldentey, Wolfgang H. Barz, p. 571 – 596.
- LILLEY, M.; RUFFELL, R. N.; SOMERVILLE, H. J. 1980. Purification of the insecticidal toxin in crystals of *Bacillus thuringiensis*. J. of General Microbiol., 118: 1-11.
- LIU Y. B.; TABASHNIK, B. E.; DENNEHY, T. J.; PATIL, A. L.; SIMS, M. A.; MEYER, S. K.; CARRIÈRE Y. 2001 Effects of Bt cotton and cry1Ac toxin on survival and development of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). Journal of Economic Entomology, 94 (5): 1237-1242.

- LOSEY, J. E.; RAYOR, L. S.; CARTER, M. E. 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 399: 214.
- LOZZIA, G. C. 1999. Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera: Carabidae) in Bt corn and its effects on non-target insects. *Boll. Zool. Agrar. Bachicoltura*, 31: 37–58.
- MCMANUS, M. T.; WHITE, D. W. R.; MCGREGOR, P. G. 1994. Accumulation of a chymotrypsin inhibitor in transgenic tobacco can affect the growth of insect pests. *Transgenic Research*, 3 (1): 50-58.
- MARVIER, M. 2002. Improving risk assessment for nontarget safety of transgenic crops. *Ecological Applications*, 12 (4): 1119–1120.
- MAUCH, F.; MAUCH-MANI, B.; BOLLER, T. 1988. Antifungal hydrolases in pea tissue. II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and b-1, 3-glucanases. *Plant Physiol.*, 88: 936-942.
- MISHRA, S. C.; SEN-SARMA, P. K. 1987. pH trends in the gut of xylophagous insects and their adaptive significance. *Mater. Organ.*, 22: 311-319.
- MELO, F. R.; SALES, M. P.; SILVA, L. S.; FRANCO, O. L.; BLOCH, C. Jr.; ARY, M. B. 1999. Alpha-amylase from cowpea seeds. *Prot. Pept. Lett.*, 6: 387-392.
- MENN, J. J.; HALL, F. R. 1999. Biopesticides: Present status and future prospects. *In: Biopesticides: Use and deliver*. F. R Hall; J. J Menn, eds. Humanan Press, Totowa, N. J., p. 301-320.
- MILLER, N.; LEHANE, M. J. 1990. *In vitro* perfusion studies on the peritrophic membrane of the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans* (Diptera:Glossinidae). *Journal of Insect Physiology*, 36: 813-818.
- MONSANTO. 2007. Safety Assessment of Bollgard II® Cotton Event 15985 (http://www.monsanto.com/pdf/products/bollgard_II_es.pdf) consultado October 2007.
- MONSANTO, 2002. Bollgard cotton product safety summary. http://www.monsanto.com/monsanto/layout/our_pledge/pss_Bollgardcotton.asp. Consultado Octubre del 2007
- MONTAGNON, C. 2005. Genetically modified coffees – the experience of CIRAD. Presentation. *In: ICO Seminar on Genetically Modified Coffee Workshop*. http://www.ico.org/event_pdfs/gm/gm.htm (acceso en nov 2005).
- MORENO, J.; CHRISPEELS, M. J. 1989. A lectin gene encodes the α -amylase inhibitor of the common bean. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 7885-7889.
- MORENO VILLAMIL, R. 2007. Síntesis y revisión de las estrategias para la prevención, manejo, evaluación y monitoreo del desarrollo de resistencia en plagas blanco de cultivo transgénico. Tomo II 43- 84. *In: Hodson de Jaramillo, E. y Carrizosa P., MS(comp). Desarrollo de capacidades para evaluación y gestión de riesgos y monitoreo de organismos genéticamente modificados (OGM). Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C. Colombia*, 306 p.
- MORTON, R. L.; SCHROEDER, H. E.; BATEMAN, K. S.; CHRISPEELS, M. J.; ARMSTRONG, E.; HIGGINS, T. J. V. 2000. Bean alpha-amylaseinhibitor I, in transgenic peas (*Pisum sativum*) provides complete protection from pea weevil (*Bruchus pisorum*) under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97 (8): 3820-3825.
- MURDOCK, L. L.; BROOKHART, G.; DUNN, P. E ; FOARD, D. E; KELLEY, S.; KITCH, L.; SHADER, E.; SHUKLE, R. H.; WOLFSON, J. L.;1987. Cysteine digestive proteinases in Coleoptera. *Comparative biochemistry and physiology. B.* 87 (44): 783-787.
- NORTON, G. 1991. Proteinase Inhibitors. *In J. P. F. D’Mello, C.M. Duffus; J.H. Duffus, eds. Toxic substances in crop plants. The Royal Society of Chemistry*, p. 68-106.
- NOTEBOEN, H. P.; KUIPER, H. A. 1994. Safety Assessment strategies for genetically modified plant products: A case study of *Bacillus thuringiensis*-toxin tomato. *Proceedings of the Third International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms*. Editors: Jones, D. D . Publisher: University of California, Oakland, p. 199-207.
- OBERHAUSER, K. S.; PRYSBY, M. D.; MATTILA, H. R.; STANLEY-HORN, D. E., SEARS, M. K.; DIVELY, G.; OLSON, E.; PLEASANTS, J. M.; LAM, W. K. F.; HELLMICH, R. L. 2001. Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *PNAS*, 98: 11913-11918.

- OKUDA, M.; SATOH, T.; SAKURAI, N.; SHIBUYA, K.; KAJI, H.; SAMEJIMA, T. 1997. Overexpression in *E. coli* of chemically synthesized gene for active 0.19 α -amylase inhibitor from wheat kernel. *J. Biochem.*, 122: 918-926.
- OROZCO-CÁRDENAS, M.; MCGURL, B.; RYAN, C. A. 1993. Expression of an antisense prosystemin gene in tomato plants reduces resistance toward *Manduca sexta* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90 (17): 8273-8276.
- ORTIZ, S. 2002. Los Organismos genéticamente modificados y el análisis de riesgo. Nappo PARA Symposium. Puerto Vallarta, Mexico, marzo 2002. <http://www.nappo.org/PRA-Symposium/PDF-Final/Ortiz.pdf>
- OVERBYE, L. J.; SANDKVIST, M.; BAGDASARIAN, M. 1993. Genes required for extracellular secretion of enterotoxin are clustered in *Vibrio cholerae*. *Gene* 132: 101-106.
- PEFEROEN, M. 1997. Progress and prospects for field use of Bt genes in crops. *Trends in Biotechnology*, 15: 173-177.
- PEREIRA, R. A.; BATISTA, J. A. N.; DA SILVA, M. C. M.; OLIVEIRA NETO, O. B.; FIGUEIRA, E. L. Z.; VALENCIA, A.; GROSSI-DE-SA, M. 2006. An α -amylase inhibitor gene from *Phaseolus coccineus* encodes a protein with potential for control of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Phytochemistry*, 67: 2009-2016.
- PERLAK, F. J.; DEATON, R. W.; ARMSTRONG, T. A.; FUCHS, R. L.; SIMS, S. R.; GREENPLATE, J. T.; FISCHHOFF, D. A. 1990. Insect resistance cotton plants. *Biotechnology*, 8: 939-943.
- PERLAK, F. J.; FUCHS, R. L.; DEAN, D. A.; MCPHERSON, S. L.; FISCHHOFF, D. A. 1991 Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 3324-3328.
- PERTHUIS, B.; PRADON, J.; MONTAGNON, C.; DUFOUR, M.; LEROY, T. 2005. Stable resistance against the leaf miner *Leucoptera coffeella* expressed by genetically transformed *Coffea canephora* in a pluriannual field experiment in French Guiana. *Euphytica*, 144: 321-329.
- PETERS, W. 1992. Peritrophic membranes. Springer-Verlag, Berlin, 238 p.
- PETERS, W.; WIESE, B. 1986. Permeability of the peritrophic membranes of some Diptera to labelled dextrans. *J. Insect Physiol.*, 32: 43-49.
- PILCHER, C. D.; OBRYCKI, J. J.; RICE, M. E.; LEWIS, L. C. 1997. Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.*, 26: 446-454.
- PLEASANTS, J. M.; HELLMICH, R.; DIVEY, G. P.; SEARS, M. K.; STANLEY-HORN, D. E.; MATTILA H. R.; FOSTER J. E.; CLARK, T. L.; JONES, G. D. 2001. Corn pollen deposition on milkweeds in and near corn fields. *PNAS*, 98: 11919-11924.
- POWELL, K. S.; GATEHOUSE, A. M.; HILDER, V. A.; GATEHOUSE, J. A. 1993. Antimetabolic effect of plant lectins and plant and fungal enzymes on the nymphal stages of two important rice pests, *Nilaparvata lugens* and *Nephotettix cinctipes*. *Entomol. Exp. Appl.*, 66 (2): 119-126.
- PRAY, C.; HUANG, J.; HU, R.; ROZELLE, S. 2002. Five years of Bt cotton in China - the benefits continue. *The Plant Journal*, 34: 423-30.
- PUEYO, J. J.; HUNT, D. C.; CHRISPEELS, M. J. 1993. Activation of bean α -amylase inhibitor requires proteolytic processing of the pro-protein. *Plant Physiol.*, 101: 1341-1348.
- PULLIAM, D. A.; WILLIAMS D. L.; BROADWAY R. M.; STEWART C. N. 2001. Isolation and characterization of a serine proteinase inhibitor cDNA from cabbage and its antibiosis in transgenic tobacco plants. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 2: 19-32.
- PURCELL, J.; ISAAC, B.; TRAN, M.; SAMMONS, D.; GILLESPIE, J.; GREENPLATE, J.; SOLSTEN, R.; PRINSEN, M.; PERSHING, J.; STONARD, R. 1994. Two enzymes classes active in green peach aphids bioassay. *J. Econ. Entomol.*, 87: 15-19.
- PURCELL, J. P.; GREENPLATE, J. T.; JENNINGS, M. G.; RYERSE, J. S.; PERSHING, J. C.; SIMS, S. R.; PRINSEN, M. J.; CORBIN, D. R.; TRAN, M. 1993. Cholesterol oxidase: A potent insecticidal protein active against bollweevil larvae. *Biochem. Bio Res. Comm.*, 196: 1406-1413.
- PUSZTAI, A.; WATT, W. B.; STEWART, J. C. 1991. A comprehensive scheme for the isolation of trypsin inhibitors and the agglutinin from soybean seeds. *Journal Agric. Food Chem.*, 39: 862-866.

- PUSZTAI, A.; EWEN, S. W. B.; GRANT, G.; BROWN, D. S.; STEWART, J. C.; PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M.; BARDOZ, S. 1993. Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other N-acetylglucosamine-specific lectins. *British Journal of Nutrition*, 70 (9): 313-321.
- QAIM, M.; DE JANVRY, A. 2005. Bt cotton and pesticide use in Argentina: economic and environmental effects. *Environment and Development Economics*, 10: 179-200.
- RANEY, T. 2006. Economic impact of transgenic crops in developing countries. *Current opinion in Biotechnology*, 17 (2): 174-178.
- RAO, K. V.; RATHORE, K. S.; HODGES, T. K.; FU, X.; STÖGER, E.; SUDHAKAR, D.; WILLIAMS, S.; CHRISTOU, P.; BHARATHI, M.; BOWN, D. P.; POWELL, K. S.; SPENCE, J.; GATEHOUSE, A. M.; GATEHOUSE, J. A. 1998 Expression of snowdrop lectin (GNA) in transgenic rice plants confers resistance to rice brown planthopper. *The Plant Journal for cell and molecular biology*, 15 (4): 469-477.
- REECK, G. R.; KRAMER, K. J.; BAKER, J. E.; KANOTS, M. R.; FABRICK, J. A.; BEHNE, C. A. 1997. Proteinase inhibitors and resistance of transgenic plants to insects. In: Carozzi, N.; Koziel, M. (Eds.). *Advances in insect control*. London: Taylor & Francis, chap. 8, p. 123-138.
- REGEV, A.; KELLER, M.; STRIZHOV, N.; SNEH, B.; PRUDOVSKY, E.; CHET, I.; GINZBERG, I.; KONCZ, K. Z.; KONCZ, C.; SCHELL, J.; ZILBERSTEIN, A. 1996. Synergistic activity of a *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin and a bacterial endochitinase against *Spodoptera littoralis* larvae. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 3581-3586.
- RICHARDSON, M. 1991. Seed storage proteins: The Enzyme inhibitors. In: L.J. Rogers (ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, Vol 5, Amino acids, proteins and nucleic acids. Academic Press, New York, p. 259-305.
- ROBERTS, W. K.; SELITRENNIKOFF, C. P. 1988. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. *J. Gen. Micro.*, 134: 169-176.
- ROBY, D.; ESQUERRE-TUGAYE, M. T. 1987. Induction of chitinases and of translatable mRNA for these enzymes in melon plants infected with *Colletotrichum lagenarium*. *Plant Sci.*, 52: 175-185.
- ROUSH, R. T.; SHELTON, A. M. 1997. Assessing the odds: the emergence of resistance to Bt transgenic plants. *Nat. Biotechnol.*, 15: 816-817.
- RYMERSON, R. T.; BODNARYK, R. P. 1995. Gut proteinase activity in insect pests of canola. *Canadian entomologist*, 127 (11): 41-48.
- SAMPSON, M. N.; GOODAY, G. W. 1998. Involvement of chitinases of *Bacillus thuringiensis* during pathogenesis in insects. *Microbiology*, 144: 2189-2194.
- SANTIAGO, J. G.; LEVY-BENSHIMOL, A.; CARMONA, A. 1993. Effect of *Phaseolus vulgaris* lectins on glucose absorption, transport, and metabolism in rat everted. *Journal of nutritional biochemistry*, 4 (77): 426-430.
- SANTOS, M. O.; ADANG, M. J.; ALL, J. N.; BOERMA, H. R.; PARROTT, W. A. 1997. Testing transgenes for insect resistance using *Arabidopsis*. *Molecular Breeding*, 3 (3): 183-194.
- SACCHI, V. F.; PARENTI, P.; HANOZET, G. M.; GIORDANA, B.; LUTHY, P.; WOLFERSBERGER, M. G. 1986. *Bacillus thuringiensis* toxin inhibits K⁺ -gradient-dependent amino acid transport across the brush border membrane of *Pieris brassicae* midgut cells. *Fed. European Biol. Soc. Lett.*, 204: 213-218.
- SAHAI, A. S.; MANOCHA, M. S. 1993. Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiol. Rev.*, 11: 317-338.
- SCHENPF, E.; CRICKMORE, N.; VANRIE, J.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R.; DEAN, D. H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticide crystal proteins. *Microbio. Mol. Biol. Rev.*, 62: 775-806.
- SCHICKLER H.; CHET I. 1997. Heterologous chitinase gene expression to improve plant defense against phytopathogenic fungi. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19 (3): 196-201.
- SCHIMOLER-O'ROURKE, R.; RICHARDSON, M.; SELITRENNIKO., C. P. 2001. Zeamatin inhibits trypsin and α -amylase activities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 2365-2366.

- SCHLUMBAUM, A.; MAUCH, F.; VOGELI, U.; BOLLER, T. 1986. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. *Nature*, 324: 365-367.
- SCHROEDER, H. E.; GOLLASH, S.; MOORE, A.; TABE, L. M.; CRAIG, S.; HARDIE, D.; CHRISPEELS, M. J.; SPENCER, D.; HIGGINS, T. J. V. 1995. Bean alpha-amylase inhibitor confers resistance to the pea weevil, *Bruchus pisorum*, in genetically engineered peas (*Pisum sativum* L.). *Plant Physiol.*, 107, 1233-1239.
- SCRIBER J. M. 2001. Bt or not Bt: Is that the question ?. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98(22): 12328-12330.
- SEARS, M. K.; HELLMICH, R. L.; STANLEY-HORN, D. E.; OBERHAUSER, K. S.; PLEASANTS, J. M.; MATTILA, H. R.; SIEGFRIED, B. D.; DIVELY, G. 2001. Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *PNAS* 98: 11937-11942.
- SHADE, R. E.; SCHROEDER, H. E.; PUEYO, J. J.; TABE, L. L.; MURDOCK, T. J. V.; HIGGINS, M. J.; CHRISPEELS, M. J. 1994. Transgenic pea seeds expressing the a-amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles. *Bio/Technol.*, 12: 793-796.
- SHAHABUDDIN, M.; KASLOW, D. C. 1993. Transmission-blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malarial parasite chitinase by mosquito protease. *Parasitol. Today*, 9: 252-255.
- SHAHABUDDIN, M.; TOYOSHIMA, T.; AIKAWA, M.; KASLOW, D. C. 1993. Transmission-blocking activity of a chitinase inhibitor and activation of malarial parasite chitinase by mosquito protease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90: 4266-4270.
- SHELTON, A. M.; ZHAO, J. Z.; ROUSH, R. T. 2002. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Ann. Rev. Entomol.*, 47: 845-881.
- SHEN, Z.; CORBIN, D. R.; GREENPLATE, J. T.; GREBENOK, R. J.; GALBRAITH, D. W.; PURCELL, J. P. 1997. Studies on the mode of action of cholesterol oxidase on insect midgut membranes. *Archives of Insect Biochem. Physiol.*, 34: 429-442.
- SIEBER, K. P.; HUBER, M.; KASLOW, D.; BANKS, S. M.; MOTOMI, T.; AIKAWA, M.; MILLER, L. H. 1991. The peritrophic membrane as a barrier: its penetration by *Plasmodium gallinaceum* and the effect of a monoclonal antibody to ookinetes. *Exp. Parasitol.*, 72: 145-156.
- SIEGEL, J. P. 2001. The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *J. Invert. Pathol.*, 77: 13-21.
- SINGENTA. 2007. <http://www.syngentaseeds.es/biotecnologia/sostenibilidad.htm>. Consulta Nov 2007.
- SISTERSON, M. S.; BIGGS, R. W.; MANHARDT, N. M.; CARRIÈRE, Y.; DENNEHY, T.; TABASHNIK, B. E. 2007. Effects of transgenic Bt cotton on insecticide use and abundance of two generalist predators. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 124 (3): 305-311.
- SMITH, C. M. 2005. Transgenic Arthropods resistance. IN: *Plant Resistance to Arthropods*, Chapter 10. Molecular and conventional approaches. C. Michael Smith, ed., Springer. Netherlands, p. 303-343.
- STANLEY-HORN, D. E.; DIVELY, G. P.; HELLMICH, R. L.; MATTILA, H. R.; SEARS, M. K.; ROSE, R.; JESSE, L. C. H.; LOSEY, J. E.; OBRYCKI, J. J.; LEWIS, L. 2001. Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *PNAS*, 98: 11931-11936.
- STRICKLAND, J. A.; ORR, G. L.; WALSH, T. A. 1995. Inhibition, of *Diabrotica* larval growth by potatin, the lipid acyl hydrolase from potato tubers. *Plant. Physiol.*, 109: 667-674.
- SUDHA, P. M.; MUTHU, S. P. 1988. Damage to the midgut epithelium caused by food in the absence of peritrophic membrane. *Curr. Science*, 57: 624-625.
- SYMONDSON, W. O. C.; SUNDERLAND, K. D.; GREENSTONE, M. H. 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Ann. Rev. Entomol.*, 47: 561-594.
- TABASHNIK, B. E.; CARRIÈRE Y.; DENNEHY, T. J.; MORIN, S.; SISTERSON, M. S.; ROUSH, R. T.; SHELTON, A. M.; ZHOU, Z. J. 2003. Insect resistance to transgenic Bt crops: Lessons from the laboratory and field. *J. Econ. Entomol.*, 96 (4): 1031-1038.

- TANADA, Y.; KAYA, H. 1993. Fungal Infections. *In*: Insect pathology. Academic Press San Diego, CA., p 318-387.
- TERRA, W. R.; FERREIRA, C. 1994. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. Comparative biochemistry and physiology. Part B. Biochemistry & molecular biology, 109 (1): 1-62.
- TERRA, W. R.; FERREIRA, C. 1981. The physiological role of the peritrophic membrane and trehalase: digestive enzymes in the midgut and excreta of starved larvae of *Rhynchosciara*. J. Insect Physiol., 27: 325-331.
- TINJACA ESPINEL, C. P. 2007. National biosafety systems of Argentina, Canada and Colombia: A comparative analysis of their framework for implementing biosafety case study: MON810. Tomo II . 235-300. *In*: Hodson de Jaramillo, E. y Carrizosa P., MS (comp). Desarrollo de capacidades para evaluación y gestión de riesgos y monitoreo de organismos genéticamente modificados (OGM). Alexander von Humboldt. Bogotá, D.C. Colombia. 306 p.
- THOMAS, J. C.; WASMANN, C.; ECHT, C.; DUNN, R.; BOHNERT, H.; MCCOY, T. 1994. Introduction and expression of an insect proteinase inhibitor in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Cell Report, 14: 31-36.
- THOMAS, J. C.; ADAMS, D. G.; KEPPE, V. D.; WASMANN, C. C.; BROWN, J. K.; KANOST, M. R.; BOHNERT, H. J. 1995a. *Manduca sexta* encoded protease inhibitors expressed in *Nicotiana tabacum*. Plant Physiology and Biochemistry, 33 (5): 611-614.
- THOMAS, J. C.; ADAMS, D. G.; KEPPE, V. D.; WASMANN, C. C.; BROWN, J. K.; KANOST, M. R.; BOHNERT, H. J. 1995b. Protease inhibitors of *Manduca sexta* expressed in transgenic cotton. Plant Cell Reports, 14 (12): 758-762.
- USDA- ARS. 2007. Protecting Farmer's investment in Bt cotton. <http://www.ars.usda.gov/is/AR/archive/feb01/farm0201.htm>. Consultado Nov 2007
- VAECK, M.; REYNAERTS, A.; HOFTE, H.; JANSENS, S.; DE BEUCKELER, M.; DEAN, C.; ZABEAU, M.; VAN MONTAGU, M.; LEEMANS, J. 1987. Transgenic plants protected from insect attack. Nature, 238: 33-37.
- VALENCIA, A.; BUSTILLO, A. E.; OSSA, G.; CHRISPEELS, M. J. 2000. α -amilases of the coffee borer (*Hypothenemus hampei*) and their inhibition by two plant amylase inhibitors. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 30: 207-213
- VAN MELLAERT, H.; VAN RIE, J.; HOFMANN, C.; REYNAERTS, A. 1988. Insecticidal crystal proteins from *Bacillus thuringiensis*: mode of action and expression in transgenic plants. p 82-87 *In*: D. W. Roberts, R.; Granados, R., eds., Biotechnology, biological pesticides, and novel plant-pest resistance for insect pest management. Cornell University, Ithaca, 175 p.
- VERTESY, L.; TRIPIER, D. 1985. Isolation and structure elucidation of an α -amilase inhibitor, AI-3688, from *Streptomyces aureofaciens*, FEBS Lett., 185: 187-190.
- VOGELSANG, R.; BARZ, W. 1990. Elicitation of b-1,3-glucanase and chitinase activities in cell suspension cultures of *Ascochyta rabiei* resistant and susceptible cultivars of chickpea (*Cicer arietinum*). Z. Naturforsch., 45c: 233-239.
- YAMAGATA, H.; KUNIMATSU, K.; KAMASAKA, H.; KURAMOTO, T.; IWASAKI, T. 1998. Rice bifunctional α -amylase/subtilisin inhibitor: characterization, localization, and changes in developing and germinating seeds. Biosci. Biotechnol. Biochem., 62: 978 – 985.
- ZANGERL, A. R.; MCKENNA, D.; WRIGHT, C. L.; CARROLL, M.; FICARELLO, P.; WARNER, R.; BERENBAUM, M. R. 2001. Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. PNAS, 98: 11908-11912.
- ZHU, Z.; GERN, L.; AESCHLIMANN, A. 1991. The peritrophic membrane of *Ixodes ricinus*. Parasitol. Res., 77: 635-641.



CAPÍTULO 16

Control legal de insectos plagas

Luis Miguel Constantino Chuairé y Pablo Benavides Machado

Se entiende como control legal, la aplicación de leyes o disposiciones del gobierno para impedir el ingreso de plagas o enfermedades fitosanitarias a un país, retardar su propagación o dispersión dentro de éste, establecer la posibilidad de erradicación y limitar su desarrollo, mediante la reglamentación de medidas coercitivas en los cultivos (Dent, 1991; Cisneros, 1995). El control legal se ejecuta a través de cuarentenas, permisos fitosanitarios para la movilización de material vegetal, certificados de inspección, certificados de tratamiento con productos agropecuarios permitidos como fumigantes, fungicidas, insecticidas o desinfectantes de productos agrícolas, reglamentación sobre épocas de siembra de cultivos, erradicación de plagas y reglamentación del uso y comercialización de plaguicidas (Dent, 1991; Cisneros, 1995).

En Colombia, el Ministerio de Agricultura a través del Instituto Colombiano Agropecuario- ICA, es la entidad encargada de aplicar las leyes o disposiciones gubernamentales de tipo fitosanitario para los diferentes cultivos, regulando las zonas y fechas de siembra, y también las normas para la destrucción de los residuos de cosecha, para evitar así, la permanente disponibilidad de alimento para los insectos plaga, o prohibiendo el traslado de material vegetal entre departamentos, para prevenir la propagación de plagas (Decreto 1840/94).

Los cultivos agrícolas desde su lugar de origen, siempre han coexistido en estrecha relación con insectos fitófagos y patógenos, que a su vez albergan una fauna benéfica que mantiene sus poblaciones reguladas. Cuando los cultivos empezaron a distribuirse alrededor del planeta, fuera de su lugar de origen, inicialmente se mantuvieron libres de sus plagas y enfermedades nativas, pero a lo largo de los años, se han venido haciendo muchas introducciones con semillas y materiales vegetativos contaminados o infestados con estados biológicos de insectos, con lo cual gradualmente se han introducido accidentalmente plagas y enfermedades nativas, que al no presentar sus enemigos naturales se incrementan considerablemente (Hill, 1983). Este es el caso de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, especie originaria de África y que actualmente se encuentra distribuida en todas las zonas productoras de café del mundo (Cárdenas y Posada, 2001; Bustillo, 2006).

La importación de material vegetal vivo o partes de plantas representan el mayor riesgo de introducción de insectos plagas. Por ejemplo, la importación de germoplasma usado para la implementación de programas de mejoramiento genético en un país dado, presentan un gran riesgo de introducción de plagas exóticas (Kahn, 1982; Dent, 1991). Internacionalmente existen regulaciones y restricciones que prohíben la entrada de cierto tipo de plantas o parte de ellas, especialmente si proceden de áreas endémicas, donde existen plagas de interés cuarentenario (Dent, 1991). El material vegetal restringido debe ser supervisado a la llegada al país y a la vez se debe tratar con plaguicidas, si hay sospecha de presencia de plagas, o se pueden hacer tratamientos con vapor, con altas o bajas temperaturas o mediante irradiación hasta cierto nivel, con el fin de matar la plaga pero no la planta (Couey *et al.*, 1985; Kahn, 1982). Estas medidas, por ejemplo, han sido útiles para el control de ácaros y larvas de las moscas de la fruta, *Anastrepha suspensa* y *Dacus* sp., en frutos de mango y de papaya (Couey *et al.*, 1985).

Cuando no hay forma de certificar si el material vegetal está sano y libre de plagas y enfermedades, las plantas se cultivan en invernaderos y sitios aislados, los cuales se mantienen en observación en estaciones

de cuarentena. Las estaciones de cuarentena tienen instalaciones en las cuales las plantas pueden crecer en completo aislamiento biológico, bajo estrictas condiciones fitosanitarias hasta que se asegure que las plantas están libre de plagas, usualmente en un período mayor a la duración del ciclo de vida de la plaga (Dent, 1991). También se recomienda mantener los clones de cultivos perennes en períodos de cuarentena, en un tercer país, ubicado en regiones templadas, ya que es poco probable que las plagas exóticas provenientes de una región tropical puedan sobrevivir si llegasen a escapar (Hill y Waller, 1982).

Sin embargo, todavía existe una gran cantidad de plagas de cultivos que no se han dispersado o no han sido introducidas a otros países. Esto ha conllevado a que los países tomen medidas fitosanitarias y de cuarentena en los aeropuertos, en los puertos marítimos de entrada a las ciudades y en las carreteras, para prevenir la entrada de material vegetal y de plagas. En este sentido, la cuarentena, a pesar de ser una medida de tipo legislativo, actúa como una forma de control, ya que son usadas para prevenir la dispersión de plagas importantes a lo largo de las fronteras internacionales (Dent, 1991).

Cuarentena

Los crecientes niveles de exportación y transporte internacional de material vegetativo (plantas ornamentales, flores, frutas, verduras, semillas, maderas, fibras vegetales, artesanías con material vegetal, empaques de madera, muebles, etc.) que se da entre diferentes países en el marco de las políticas de tratado de libre comercio, conlleva al riesgo creciente de introducciones accidentales y de dispersión de insectos plaga (Singh, 1988; Zimmerman, 1990; Dent, 1991). Las especies de insectos que no pueden dispersarse a grandes distancias por métodos naturales ya que son pequeñas o no tienen suficiente capacidad de vuelo, pueden ser inadvertidamente transportadas de un país a otro o de un continente a otro ya sea en forma de adulto o en estado de larva, huevo o pupa en los embalajes o contenedores de frutas, flores, granos, semillas y en todo tipo de material vegetal o animal, por los medios de transporte fluvial o marítimo como los barcos y los transportes aéreos, o por las mismas personas cuando transportan una simple fruta en el equipaje de mano (Dent, 1991).

El riesgo que trae consigo la introducción accidental de plagas de un país a otro y que puede causar graves problemas a la agricultura, a los cultivos forestales y ornamentales y la introducción de insectos vectores de enfermedades de interés médico que pueden afectar la salud de las personas, ha llevado a que los países adopten leyes y medidas cuarentenarias, fitosanitarias y zoonosanitarias para el control, la seguridad y el diagnóstico sanitario y epidemiológico animal y vegetal en los principales puertos marítimos y aeroportuarios (Zimmerman, 1990). Para tal fin las disposiciones cuarentenarias condicionan, regulan, restringen o prohíben la introducción, transporte o existencia de plantas o productos vegetales. La cuarentena puede ser externa o interna, en un área o región de protección en todo el país o un departamento (Cisneros, 1995).

Las bases legales de dichas cuarentenas se realizan en Colombia a través del Ministerio de Agricultura quien expide leyes y decretos reglamentarios que prohíben, regulan o controlan el transporte de material vegetal, el manejo de la sanidad vegetal, el manejo de la sanidad animal, el control técnico de insumos agropecuarios, así como el del material genético animal y las semillas para siembra. Todas estas actividades deben estar encaminadas a cumplir las acciones y disposiciones legales necesarias para la prevención, el control, la supervisión, la erradicación o el manejo de enfermedades, plagas, arvenses o cualquier otro organismo dañino que afecten las plantas, los animales y sus productos (Artículo 2, Decreto 1840/94). En dicho decreto se cubren todas las especies animales y vegetales y sus productos derivados, el material genético animal y las semillas para las siembras existentes en el país o que se encuentren en proceso de introducción al territorio nacional, como también los insumos agropecuarios (Art. 1, Decreto 1840/94).

Algunos ejemplos de las plagas cuarentenarias más importantes en diversos países incluyen la mosca del mediterráneo *Ceratitis capitata*, la mosca de la manzana *Rhagoletis pomonella*, el escarabajo japonés *Popillia japonica*, el picudo del algodón *Anthonomus grandis*, la mosca mexicana de las frutas *Anastrepha ludens*, la mosca suramericana de las frutas *Anastrepha fraterculus*, la mosca oriental de las frutas, *Dacus dorsalis*; el escarabajo colorado de la papa, *Leptinotarsa decemlineata*; la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora*; la polilla de la papa, *Phthorimaea operculella*; los trips de las palmas, *Thrips palmi*; la

cochinilla rosada del hibisco, *Maconellicoccus hirsutus*, entre muchos otros (ICA, 2005). Solo por citar algunos ejemplos, el departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y el servicio Forestal de ese mismo país, tienen una lista de plagas potenciales de interés cuarentenario para la madera de *Eucalyptus* sp., que se importa de Suramérica, en la cual se incluyen 175 insectos y 58 patógenos (USDA, 2001). La asociación de Floricultores de Colombia incluye 122 plagas cuarentenarias exóticas, 111 plagas endémicas y 232 plagas mundiales en la floricultura (ICA, 2004).

Cuarentena externa

Cuando se trata de evitar el ingreso al país de las plagas y enfermedades peligrosas que no existen o están muy poco difundidas, la cuarentena externa puede ser absoluta o parcial. Cuando es absoluta no se permite la entrada al país de material que pueda contener el problema o parcial, si éste se puede introducir previo el cumplimiento de requisitos que se impongan que garanticen su inocuidad. (Cisneros, 1995). Como ejemplo está el caso de la cochinilla rosada del hibisco, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae), un insecto originario de India y que de allí se ha dispersado al trópico y subtrópico del mundo. En la década de los noventa llegó al Caribe en el continente americano, posiblemente en embarques de plantas ornamentales (Cermeli *et al.*, 2002). *M. hirsutus* es un insecto polífago que tiene más de 350 especies de plantas hospederas, distribuidas en 218 géneros y 70 familias botánicas, incluidos 215 cultivos como el café, algodón, cacao, aguacate, caña de azúcar, frutales, plantas ornamentales, hortalizas, especies forestales y flores (Padilla, 2000). Es considerada una especie de gran importancia económica, no sólo por el daño directo que causa a las plantas cultivadas sino también por su importancia cuarentenaria y los problemas que esto acarrea a las exportaciones y el comercio de productos agrícolas perecederos (Cermeli *et al.*, 2002; ICA, 2004). El daño es causado por la extracción de savia de las ninfas y hembras adultas y la toxicidad causada por la saliva, produciendo severas distorsiones a las hojas y deformaciones en las yemas terminales y axilares de las plantas atacadas (Cermeli *et al.*, 2002). Desde su aparición en la isla de Granada en 1993, se decretó una alerta cuarentenaria en toda la región Caribe. A pesar de estas medidas, la cochinilla rosada se ha propagado en casi todas las islas del Caribe y sigue su avance a los países limítrofes del mar Caribe (Cermeli *et al.*, 2002). En Venezuela se registró por primera vez en la Isla de Margarita, en plantas de *Hibiscus* y *Annona*, en 1999. Ante esta situación se decretó en cuarentena al estado de Nueva Esparta y se diseñaron planes para la producción de dos enemigos naturales, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) y *Anagyrus kamali* de Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae), utilizados en varios de los países afectados en el Caribe. En el 2000, se encontró por primera vez en tierra firme en la ciudad de Cumaná, estado Sucre y en la costa oriental del lago de Maracaibo (Cermeli *et al.* 2002). Ante esta situación el 26 de julio de 2002, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), produjo la Resolución de Emergencia No. 01682 del 15 de julio de 2002, para declarar la emergencia fitosanitaria en todo el territorio nacional, para prevenir la entrada y establecimiento de la plaga. Sin embargo, en octubre de 2006 se reportó por primera vez en Colombia en los municipios de Maicao y Albania en el departamento de La Guajira, y en los municipios de Valledupar y la Paz, en el departamento de Cesar (Matheus *et al.*, 2006).

En Colombia se tomaron acciones significativas de control legal mediante cuarentena externa para evitar la entrada de la broca del café. En el año de 1987 se adelantó una campaña para la identificación y el reconocimiento del insecto por parte de los agricultores ubicados en regiones de la frontera con Ecuador, y se capacitó a los inspectores de las aduanas en aeropuertos y límites terrestres, para la detección del insecto. Esta campaña permitió registrar por primera vez a la broca en territorio nacional en la vereda Mateplátano en el municipio de Tumaco (Nariño) (Bustillo, 1990). Esta región, limítrofe con Ecuador, tenía establecidas pequeñas plantaciones de café en sistemas de cultivo de supervivencia. Se adelantó una estrategia de erradicación de la broca, mediante la sustitución de los cafetales por cultivos como pastos, cacao, coco, borjón, frijol y maíz (Bustillo, 1990).

En el caso de los embalajes, la Norma Internacional sobre Medidas Fitosanitarias en Colombia (NIMF 15, Resolución ICA No.1079), en coordinación con los Ministerios de Agricultura y Desarrollo Rural y de Industria, Comercio y Turismo, describe las medidas fitosanitarias para reducir el riesgo de introducción o dispersión de plagas cuarentenarias relacionadas con el embalaje de madera (incluida la madera de estiba), fabricado de madera en bruto de coníferas y no coníferas, utilizado en el comercio internacional, que pueda representar una vía para las plagas de plantas y constituir una amenaza principalmente para los árboles vivos. El uso de bromuro de metilo, según la norma NIMF-15, podrá ser usado donde se realizan los

tratamientos fitosanitarios para el control de plagas en tejidos vegetales frescos y embalajes de madera, en los puertos y pasos fronterizos, con destino al comercio internacional.

Cuarentena interna

La cuarentena interna trata de evitar la difusión, propagación e incremento de las plagas existentes en el país o introducidas, que ocupan un área territorial limitada. En la cuarentena interna las principales medidas legales consisten en prohibir la movilización de las plantas o de sus partes, de las zonas infestadas hacia las zonas libres, estableciéndose puestos de control estratégicos en las vías de transporte (Cisneros, 1995). En Colombia, le corresponde al Instituto Colombiano Agropecuario- ICA, coordinar las acciones relacionadas con las campañas de prevención, control, erradicación y manejo de plagas y enfermedades de importancia cuarentenaria o de interés económico nacional o local. Para esto se establecen las acciones que sean necesarias para la prevención, el control, la erradicación o el manejo técnico y económico de plagas y enfermedades de los vegetales, de los animales y de sus productos (Art. 4, Decreto 1840/94).

La cuarentena agropecuaria, según el Art. 5, Decreto 1840/94, comprende todas aquellas medidas encaminadas a regular, restringir o prohibir la producción o la importación de animales, vegetales y sus productos, y restringir el movimiento o existencia de los mismos, con la finalidad de prevenir la introducción, dispersión o diseminación de plagas, enfermedades, arvenses u otros organismos, que afectan o puedan afectar la sanidad animal o la sanidad vegetal del país, o de impedir el ingreso, la comercialización o la salida del país de productos con residuos tóxicos que excedan los niveles aceptados nacional o internacionalmente.

De acuerdo al Art. 6, Decreto 1840/94, en materia de cuarentena agropecuaria, el ICA tiene las siguientes atribuciones:

- a) Expedir y aplicar normas y procedimientos para el control técnico de la importación, transporte, tránsito, producción, almacenamiento y exportación de vegetales, animales y sus productos.
- b) Interceptar, inspeccionar, decomisar, reexportar, tratar, destruir, colocar en cuarentena y aplicar cualquier otra medida sanitaria ante la presencia o sospecha de plagas, enfermedades o cualquier otro organismo dañino de importancia cuarentenaria, o que excedan los niveles de residuos tóxicos aceptados nacional o internacionalmente, en los materiales vegetales, animales y sus productos, con destino a la exportación, en proceso de introducción al país o movimiento en el territorio nacional.
- c) Ejercer el control fitosanitario y zoonosanitario de los medios de transporte que lleguen o ingresen al país, por vía marítima, fluvial, aérea o terrestre, y aplicar las medidas de prevención o control que se consideren necesarias.
- d) Establecer los mecanismos adecuados para la declaratoria de áreas libres, áreas de baja prevalencia o áreas vigiladas, de plagas y enfermedades.
- e) Realizar la inspección de vegetales, animales y sus productos de importación y exportación cuando las circunstancias de seguridad sanitaria del país lo ameriten o constituyan requisitos de los países importadores.
- f) Realizar o contratar la investigación básica o aplicada tendiente a resolver los problemas que afecten la comercialización de vegetales, animales y sus productos.
- g) Declarar el establecimiento o erradicación de plagas, enfermedades u otros organismos dañinos a los vegetales, a los animales y sus productos, siguiendo parámetros internacionalmente reconocidos.
- h) Declarar zonas en cuarentena, cuando circunstancias de índole fitosanitaria o zoonosanitaria lo ameriten.
- i) Fijar los sitios por los cuales se permitirá la importación o exportación de vegetales, animales o sus productos.

En cuanto a la vigilancia sanitaria y epidemiológica vegetal (Art. 7), corresponde al ICA realizar todas las acciones encaminadas a la detección, determinación y cuantificación de problemas sanitarios de las distintas especies animales y vegetales, en todo el país o dentro de zonas o áreas específicas del mismo, con el objeto de evaluar su importancia y adoptar medidas para su prevención, control, manejo y erradicación. En consecuencia, el ICA, ya sea directamente o preferiblemente en asocio con otras entidades o a través de organismos acreditados, deberá establecer los mecanismos que considere necesarios para:

- a) Diagnosticar e identificar en el campo y en el laboratorio, los problemas fitosanitarios y zoonosanitarios y de riesgos para la salud humana, que afecten la producción y el comercio nacional e internacional de vegetales, de animales y de sus productos.
- b) Realizar el reconocimiento periódico de la incidencia y prevalencia, a través del tiempo y del espacio, de las principales plagas y enfermedades que afecten a la producción agrícola y pecuaria del país, determinando en esta forma su distribución geográfica y su dinámica poblacional.
- c) Registrar y analizar periódicamente la información recopilada y hacer los correspondientes análisis y estudios económicos, manteniendo un sistema nacional de información fitosanitaria y zoonosanitaria.
- d) Supervisar, inspeccionar y certificar la condición fitosanitaria y zoonosanitaria de hatos, cultivos, plantas procesadoras o empacadoras, viveros, silos, bodegas o almacenes de depósito, y otros, cuando el caso lo requiera.
- e) Determinar el grado de importancia económica y social de las plagas, enfermedades, arvenses y otros organismos, con la finalidad, de planificar programas y campañas de prevención, control, erradicación o manejo, en coordinación y con la participación de los productores.
- f) Mantener un sistema de vigilancia y alerta fitosanitaria y zoonosanitaria que permita brindar de manera oportuna, recomendaciones a los productores, sobre técnicas para la prevención y el efectivo control y manejo de plagas, enfermedades y malezas.

Cuando se presenten emergencias sanitarias y un problema sanitario amenace severamente la salud animal o la sanidad vegetal (Art. 12), el Gobierno Nacional, por intermedio del ICA, podrá declarar el estado de emergencia sanitaria, dentro del cual se deben tomar las siguientes medidas previstas en el decreto:

- a) Interceptación, reexportación, decomiso, destrucción o desnaturalización, según el caso, de material vegetal y productos de origen animal e insumos agropecuarios, ya sea en proceso de introducción al país, o en cualquier parte del territorio nacional.
- b) Interceptación, decomiso y sacrificio de animales, en proceso de introducción al país, en lugares de ingreso o en cualquier parte del territorio nacional.
- c) Aplicación de tratamientos para erradicar plagas, enfermedades y arvenses exóticas, en cualquier parte del territorio nacional.
- d) Erradicación o destrucción parcial o total de cultivos o productos en cosecha o postcosecha, afectados por plagas o enfermedades exóticas, y aplicación de vedas en cualquier parte del territorio nacional.
- e) Aplicación de tratamientos sanitarios o sacrificio de animales o incineración de animales y vegetales y sus productos, en cualquier parte del territorio nacional.
- f) Prohibición del transporte de vegetales, animales y sus productos, desde o hacia zonas afectadas.
- g) Medidas de cuarentena, destrucción o eliminación, transformación, desinfección de animales y sus productos, así como las medidas de vigilancia para evitar la reinfección.

Las estrategias de control legal de la broca del café en Colombia, por medio de cuarentena interna, incluyeron las medidas de confinamiento adelantadas en el municipio de Ancuyá, Nariño, una vez se registró el insecto en el mes de mayo de 1989. Dado que éste fue el primer registro realizado en una región cafetera no aislada en el país, la Federación Nacional de Cafeteros, en colaboración con el ICA, adelantó un plan para evitar la dispersión del insecto a otras áreas cafeteras de importancia. Este plan comenzó con la recolección total de los frutos de los cafetales del municipio por parte de los productores, la venta exclusiva de este café con precio subsidiado en la cabecera municipal, la esterilización de los costales donde se transportó el café (lo cual fue requisito indispensable para acceder al pago del café vendido), el establecimiento de sitios de inspección y decomiso de café proveniente de las áreas de infestación en todas las salidas del municipio hacia otras regiones cafeteras (incluyó vías de acceso terrestre para automotores y caminos de herradura veredales), y la incineración en hornos, del café recolectado en la cosecha sanitaria.

Estos esfuerzos de confinamiento iniciales fueron abandonados unos meses más tarde, después del hallazgo del insecto en los municipios vecinos de Sandoná, Linares, Consacá, Guitarilla y Los Andes (Bustillo, 1990), y se descartó como estrategia útil, posterior a la detección de la broca en una región distante en el departamento de Antioquia. Este tipo de control no hubiese sido exitoso dado que la broca posiblemente invadió a Colombia mediante introducciones múltiples (Benavides *et al.* 2005), provenientes de diferentes países.

Reglamentación de cultivos

La reglamentación o regulación de cultivos tiene por finalidad establecer las condiciones menos propicias para la supervivencia y proliferación de las plagas. La reglamentación es el dispositivo legal que considera una serie de medidas culturales y de control que deben cumplirse obligatoriamente en toda una región o departamento, a fin de obtener el máximo beneficio (Cisneros, 1995). De acuerdo con el Art. 6, Decreto 1840/94, en materia de reglamentación de cultivos, y con el fin de prevenir, erradicar y controlar plagas, enfermedades u otros organismos dañinos de importancia cuarentenaria, el ICA aplica las siguientes normas:

- Determinación de épocas de siembra
- Plazos límites para la finalización de cultivos
- Destrucción de residuos y zocas de cultivos
- Destrucción de plantaciones abandonadas

Por ejemplo, para el cultivo del algodón en Colombia, el ICA mediante resoluciones fija las fechas límites para la destrucción de zocas y el recibo de algodón, en diferentes áreas o departamentos, con el fin de regular o controlar la incidencia y dispersión del picudo del algodonero, *Anthonomus grandis*, que es la principal plaga causante de los mayores daños al cultivo, para lo cual es necesario disminuir su prevalencia mediante la puesta en práctica del manejo integrado de plagas con el control etológico y la destrucción de zocas. En este sentido se establecen vedas por un período mínimo de 90 días, comprendidos entre la fecha límite para la destrucción total de zocas de algodón y la fecha de iniciación de siembra de semilla de algodón. En este período de veda se da plazo para que los agricultores de una determinada región destruyan las zocas y los cultivos abandonados, en dos etapas: mediante la destrucción total de la parte aérea por medios mecánicos o manuales, y luego, mediante arado y rastrillo, las veces que sean necesarias hasta destruir los rebrotes y las plantas germinadas (ICA, 2000).

Antes de entregar la semilla a los agricultores, las agremiaciones algodoneras legalmente registradas ante el ICA, en cumplimiento al acuerdo concertado con el Plan Nacional de Exclusión, Supresión y Erradicación Económica del picudo, *Anthonomus grandis*, están obligadas a suministrar a los agricultores afiliados los "tubos matapicudos", en la cantidad de un tubo por hectárea, para contribuir al control etológico de esta plaga. Los tubos matapicudos deberán instalarse en los lotes que se sembraron en algodón, en dos épocas, así: inicialmente en la destrucción de las zocas y después, al momento de la siembra. Por otra parte, los agricultores afiliados a las diferentes agremiaciones algodoneras de una determinada región, están en la obligación de instalar en sus respectivos lotes sembrados durante la cosecha, la cantidad de un tubo

matapicudo por hectárea, en las épocas señaladas en el Art. 10, de acuerdo a lo establecido en el "Plan Nacional de Exclusión, Supresión y Erradicación Económica" de esta plaga (ICA, 2000).

Para el cultivo del café, con respecto al manejo de la broca del café, las medidas reglamentarias dispuestas por el ICA están descritas en las resoluciones No.2581 del 1 de septiembre de 1995, por la cual se establecen medidas de carácter fitosanitario para el manejo de la broca del café y en la resolución No.00321 del 2 de marzo de 1999, por la cual se establecen disposiciones para la renovación o eliminación de cafetales que presentan infestaciones de la broca del café.

La Resolución No.2581 contiene los siguientes artículos y párrafos:

ARTÍCULO PRIMERO: Establecer de carácter obligatorio que todo productor de café debe mantener árboles de café sin frutos maduros mediante recolecciones oportunas y repases permanentes para evitar granos sobremaduros y secos. El beneficio del grano debe hacerse en forma oportuna, cubriendo con plástico el café cereza en la tolva y tratando la pulpa en un solo sitio.

ARTÍCULO SEGUNDO: Prohíbese el transporte de café cereza y seco de agua, de zonas afectadas por la broca hacia áreas libres de la plaga.

PARÁGRAFO PRIMERO: Para el transporte de café pergamino seco y pasillas de zonas afectadas hacia áreas libres, se requiere, por parte del interesado, la aplicación del tratamiento respectivo, determinado por el ICA.

PARÁGRAFO SEGUNDO: La aplicación de dicho tratamiento deberá constar en un documento que se denominará "certificado de tratamiento fitosanitario" el cual será expedido por la autoridad que autorice o delegue el ICA para tal efecto.

ARTÍCULO TERCERO: Los cafetales abandonados con o sin broca deberán ser sustituidos, renovados o erradicados para evitar que se conviertan en focos de infestación.

Entiéndase por sustitución el cambio de explotación de café por otro renglón de producción agropecuaria. La renovación es la tecnificación del cultivo a través del zoqueo o nuevas siembras.

La erradicación consiste en la eliminación total del cultivo.

Para cada una de las acciones anteriores, se seguirá el procedimiento técnico establecido por la Federación Nacional de Cafeteros y el ICA.

ARTÍCULO CUARTO: La violación a las disposiciones establecidas en la presente resolución, sus reglamentos y demás normas que regulan la materia, serán sancionadas mediante resolución motivada que expida el ICA conforme a lo establecido en el decreto 1840 de 1994.

ARTÍCULO QUINTO: Los funcionarios del ICA, que están obligados a hacer cumplir las disposiciones de la presente resolución, gozarán en el desempeño de sus funciones del amparo y protección de las autoridades civiles y militares.

ARTÍCULO SEXTO: Contra providencia que impongan las sanciones de que trate el artículo anterior, procederán los recursos previstos en los decretos 01 de 1984 y 2304 de 1989.

ARTÍCULO SÉPTIMO: La presente resolución rige a partir de su publicación en el diario oficial y deroga las resoluciones 4242 de 1990 y 1986 de 1992.

Reglamentación en el uso de insecticidas

Esta medida se utiliza en circunstancias específicas, para controlar o restringir por parte del gobierno el uso de algún tipo o grupo de insecticidas en particular, cuando se adelanta alguna campaña de erradicación de una plaga específica. Por ejemplo, en el caso del gusano bellotero del algodón (Heliothis virescens)

en Colombia, se prohíbe el uso de insecticidas piretroides sintéticos en las épocas de floración del cultivo del algodón, para el control de esta plaga, con el fin de prevenir la resistencia a los insecticidas (Sawaki y Denholm, 1989). Igualmente, con el fin de evitar riesgos de resistencia y proteger la salud en las zonas cafeteras en Colombia, se han emitido restricciones, prohibiciones y suspensión de registros de plaguicidas como el endosulfán, para el control de la broca del café. Estas resoluciones son la 1311 del 21 de junio de 2001, por la cual se cancelan los registros de venta en Colombia a la Empresa Aventis CropScience, Colombia, S. A., correspondiente a los productos formulados con base en endosulfán y, la Resolución 1312 del 21 de junio de 2001, por la cual se cancela el registro de venta de la Empresa Proficol S. A., correspondiente al producto Thionex 35 EC, formulado con base en endosulfán.

Erradicación de plagas

La erradicación completa de una especie exótica es casi imposible y muy costosa, ya que sólo se puede lograr mediante disposiciones legales obligatorias. Sin embargo, cuando se trata de una nueva plaga cuya infestación es incipiente o restringida a una área específica de un país y si se toman las medidas de control adecuadas y oportunas es posible erradicarla (Cisneros, 1995). Los programas de erradicación de plagas invasoras funcionan cuando se tiene buen conocimiento de la especie, su reproducción y su ciclo de vida, y si han causado invasiones en otros países para saber la mejor manera de controlarla. Por ejemplo, en Estados Unidos se ha logrado erradicar la mosca del mediterráneo de la fruta (*Ceratitis capitata*), en varias oportunidades en las zonas cítricas de Florida y California, mediante programas muy rigurosos de aplicación masiva de insecticidas y trampas con cebos tóxicos (Cisneros, 1995).

Cuando no hay forma de erradicarla o no es posible, se procede al control de las poblaciones de la plaga a niveles aceptables, para que los daños ecológicos y socioeconómicos sean los menores posibles mediante prácticas o programas de Manejo Integrado de Plagas, como es el caso para la broca del café en Colombia (Bustillo *et al.*, 1998; Bustillo, 2002).

Reglamentación de plaguicidas

El Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas elaborado por la FAO en 1986, es uno de los primeros códigos de conducta voluntaria, encaminado a conseguir una mayor seguridad alimentaria y, al mismo tiempo, proteger la salud humana y el medio ambiente. El Código establece normas de conducta de carácter voluntario para todas las entidades públicas y privadas que intervienen en la distribución y utilización de plaguicidas o tienen relación con las mismas, y desde su adopción ha sido la norma aceptada en todo el mundo para el manejo de los plaguicidas (FAO, 1986).

En Colombia, el ICA por delegación del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y de conformidad con el Decreto 1840/94 y la resolución 3079 de 1995, realiza el control técnico de los insumos agrícolas que se comercializan en el territorio nacional mediante el registro de productores, que implica la autorización para la importación de los productos terminados y las materias primas utilizadas en la producción. Igualmente autoriza la exportación de plaguicidas y realiza el registro de importadores y de laboratorios para el control de la calidad de los productos, así como el registro de venta de los productos a comercializar.

De acuerdo al Art. 9, Decreto 1840/94, corresponde al ICA ejercer el control técnico de los insumos agropecuarios, material genético animal y semillas para siembra, determinando los requisitos para el registro, fabricación, formulación, importación, uso y aplicación de insumos agropecuarios, por parte de empresas o personas naturales o jurídicas acreditadas para la certificación de la calidad, la eficacia y la seguridad de los insumos agropecuarios. Igualmente, le corresponde establecer los requisitos que deben cumplir las personas interesadas en adelantar investigación y desarrollo de plaguicidas químicos y biológicos con destino al registro de venta o a la ampliación del mismo como requisito previo al permiso especial de experimentación que expida el Ministerio de Salud, según los artículos 29 y 30 del Decreto 1843 de 1991. También establecer los requisitos de calidad, eficacia y seguridad, y las metodologías y procedimientos de referencia en la producción de estos insumos agropecuarios, a fin de minimizar los riesgos que provengan del empleo de los mismos y facilitar el acceso de estos productos al mercado nacional e internacional.

Por último, aplicar las medidas de emergencia y seguridad necesarias, tendientes a proteger la sanidad y la producción agropecuaria del país; supervisar, controlar y hacer seguimiento al cumplimiento de los requisitos establecidos en sus reglamentaciones y normas complementarias.

Por su parte el Ministerio de Salud, de acuerdo con el Decreto 1843 de 1991, expide el concepto toxicológico, el cual consiste en una serie de pruebas de toxicidad aguda, subaguda y crónica, en mamíferos, que generalmente realizan las casas comerciales en sus países de origen, para los productos formulados que se apliquen en el país y los permisos de experimentación bajo protocolos específicos. Este decreto busca mantener una dinámica de integración entre los Ministerios de Agricultura, a través del ICA, y de Salud, la industria y usuarios para el estudio y planeación de soluciones a la situación de los plaguicidas en Colombia (MMA, 1996).

El Ministerio de Salud clasifica los plaguicidas en cuatro (4) categorías toxicológicas, así:

Categoría I: Extremadamente Tóxica

Categoría II: Altamente Tóxica

Categoría III: Medianamente Tóxica

Categoría IV: Ligeramente Tóxica

Para determinar los niveles de residuos de los plaguicidas los organismos oficiales encargados son: El ICA, que determina los niveles de residuos en los productos de cosecha, a través del Laboratorio Nacional de Insumos Agrícolas, que realiza los estudios conducentes a determinar niveles de residuos de plaguicidas al momento de la cosecha en cultivos comerciales, con el fin de diagnosticar problemas en las zonas productoras y adelantar programas divulgativos en procura de que éstos sean utilizados de una manera más racional. En los alimentos es el INVIMA, Instituto Nacional para la Vigilancia de Medicamentos, Drogas, Alimentos y Varios, entidad responsable de determinar los niveles de residuos de plaguicidas en los alimentos procesados (MMA, 1996).

La industria de plaguicidas deberá por su parte asegurar: 1) Que cada plaguicida sea probado eficaz y adecuadamente mediante procedimientos y métodos de ensayo reconocidos, a fin de evaluar completamente su eficacia, comportamiento, destino, peligro y riesgo del plaguicida en relación con las distintas condiciones previstas en las regiones o países en los que se utilice; 2) Asegurar que tales ensayos se realicen con sólidos procedimientos científicos y en consonancia con los principios de las buenas prácticas de laboratorio; 3) Facilitar copias o resúmenes de los informes originales de tales ensayos, para su evaluación por las autoridades gubernamentales competentes, de todos los países donde el plaguicida va a ofrecerse para la venta. La evaluación de los datos deberá encomendarse a especialistas calificados; 4) Igualmente, deben asegurar que la modalidad de uso propuesto, las declaraciones e instrucciones que figuran en la etiqueta, los envases, la literatura técnica y la publicidad, reflejen verdaderamente el resultado de dichos ensayos y evaluaciones científicas (FAO, 1986).

Con el Decreto No.1753 de 1994 del Ministerio del Medio Ambiente, en su Art. 7, se establecen los casos en los cuales se requiere de licencias ambientales y en su Numeral 8 se especifica esta licencia para la producción, importación de plaguicidas y aquellas sustancias, materiales y productos sujetos a controles por virtud de tratados, convenios y protocolos internacionales ratificados por Colombia.

A nivel internacional el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), con el objetivo general de mejorar el manejo y manipulación de sustancias químicas en todos los países, intercambia información científica sobre los riesgos asociados a las sustancias tóxicas para proteger la salud humana y el ambiente, aplicando las mismas normas tanto para los productos químicos que se producen para uso interno como para la exportación, y haciendo referencia a todas las sustancias químicas y plaguicidas que están prohibidos o severamente restringidos en los países (MMA, 1996).

Literatura citada

- BENAVIDES, P.; VEGA, F.; ROMERO, J.; BUSTILLO, A. E.; STUART, J.. 2005. Biodiversity and biogeography of an important inbred pest of coffee, coffee berry borer (Coleoptera:Curculionidae: Scolytinae). *Annals of the Entomological Society of America*, 98 (3): 359-366.
- BUSTILLO, A. E. 1990. Perspectivas de un manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* en Colombia. *In: Seminario sobre la broca del café. Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Medellín, Colombia*, p. 106- 118.
- BUSTILLO, A. E. 2002. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. *Boletín Técnico Cenicafé, Chinchiná (Colombia)*. No. 24, 40 p.
- BUSTILLO, A. E. 2006. Una revisión sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 32(2): 101-116
- BUSTILLO, A. E ; CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA, F. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná (Colombia), Cenicafé, Editorial Feriva, 134 p.
- CÁRDENAS, R.; POSADA, F. J. 2001. Los insectos y otros habitantes de cafetales y platanales. Comité Departamental de Cafeteros del Quindío y Cenicafé. Armenia, Colombia, 120 p.
- CERMELI, M.; MORALES, P.; GODOY, F.; ROMERO, R.; CÁRDENAS, O. 2002. Presencia de la cochinilla rosada de la cayena, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) en Venezuela. *Entomotrópica*, 17 (1): 103-105.
- CISNEROS, F. 1995. Control de plagas. Segunda Edición. The Hofshi Foundation, Lima, Perú, 313 p.
- COUEY, H. M.; ARMSTRONG, J. W.; HYLIN, J. W.; THORNBURG, W.; NAKAMURA, A. N.; LINSE, E. S.; VETRO, R. 1985. Quarantine procedure for Hawaii papaya, using a hot-water treatment and high-temperature, low dose ethylene dibromide fumigation. *Journal of Economic Entomology*, 78: 879-884.
- DENT, D. 1991. Insect pest management. C.A.B. International, Oxon, U. K ., 604 p.
- FAO. 1986. Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Roma, 26 p.
- HILL, D. 1983. Agricultural insect pests of the tropics and their control. Second Edition, Cambridge University Press, p. 17-50.
- HILL, D.; WALLER, J. M. 1982. Pests and diseases of tropical crops. Vol. 1, Principles and methods of control. Longman, London and New York, 450 p.
- ICA. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 2004. Informe de gerencia. Bogotá, Colombia, 35 p.
- ICA. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. 2005. Informe de gerencia. Bogotá, Colombia, 43 p.
- ICA. CONALGODON, MADR, CORPOICA, FFA. 2000. Plan nacional de exclusión, supresión y erradicación económica del picudo del algodón *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). Corpoica, Tibaitatá, Colombia. 51 p.
- KAHN, R. P. 1982. The host as a vector, exclusion as a control. *In: Harris, K.; Maramorosch, K., eds. Pathogens, vectors, and plant diseases. Academic Press, New York*, p. 123-149.
- MATHEUS, H.; RODRÍGUEZ, J.; ALARCÓN, J. J. 2006. La cochinilla rosada del hibisco, una amenaza para la agricultura. Asohfrucol - ICA, Bogotá, Colombia, 6 p.
- MMA. MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE 1996. Lineamientos para una política de plaguicidas. Bogotá, Colombia, 64 p.

- PADILLA, M. R. 2000. Bioecología de la cochinilla rosada y su riesgo de ingreso en Honduras. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica), 57: 10-22.
- SAWAKI, R. M.; DENHOLM, I. 1989. Insect resistance management revisited. *In*: McFarlane, N. R. (ed.), Progress and prospects in insect control. BCPC Monograph No. 43. British Crop Protection Council, Farnham, U.K, p.191-203.
- SINGH, K. G. 1988. New pest threats and plant quarantine development in the Southeast Asia Region. PLANTI News, 7: 3-7
- USDA, FOREST SERVICE. 2001. Pest risk assessment of the importation into the United States of unprocessed *Eucalyptus* logs and chips from South America. General Technical Report, FPL- GTR-124. 134 p.
- ZIMMERMAN, N. L. 1990. Coleoptera found in imported stored-food products entering southern California and Arizona between December 1984 through December 1987. Coleopterists Bulletin, 44: 235-240.